

Rec'd PCT/PTO 23 DEC 2004

PCT/JP 03/06679

28.05.03

日本国特許庁  
JAPAN PATENT OFFICE

RECEIVED

20 JUN 2003

WIPO

PCT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出願年月日

Date of Application:

2002年 6月26日

出願番号

Application Number:

特願2002-185542

[ST.10/C]:

[JP2002-185542]

出願人

Applicant(s):

小野薬品工業株式会社

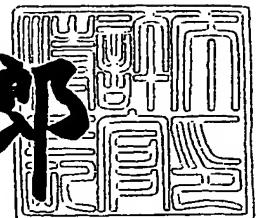
**PRIORITY  
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1 (a) OR (b)

2003年 4月15日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

太田信一郎



出証番号 出証特2003-3027716

【書類名】 特許願

【整理番号】 ONP4224

【提出日】 平成14年 6月26日

【あて先】 特許庁長官 及川 耕造 殿

【国際特許分類】 A61K 31/00  
C07C233/81  
C07D413/12

【発明者】

【住所又は居所】 大阪府三島郡島本町桜井3丁目1番1号 小野薬品工業株式会社 水無瀬総合研究所内

【氏名】 中出 真嗣

【発明者】

【住所又は居所】 大阪府三島郡島本町桜井3丁目1番1号 小野薬品工業株式会社 水無瀬総合研究所内

【氏名】 巾下 広

【発明者】

【住所又は居所】 大阪府三島郡島本町桜井3丁目1番1号 小野薬品工業株式会社 水無瀬総合研究所内

【氏名】 世古 卓哉

【特許出願人】

【識別番号】 000185983

【住所又は居所】 大阪府大阪市中央区道修町2丁目1番5号

【氏名又は名称】 小野薬品工業株式会社

【代表者】 松本 公一郎

【代理人】

【識別番号】 100081086

【住所又は居所】 東京都中央区日本橋人形町2丁目2番6号 堀口第2ビル7階 大家特許事務所

【弁理士】

【氏名又は名称】 大家 邦久

【電話番号】 03(3669)7714

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 043731

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9710265

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

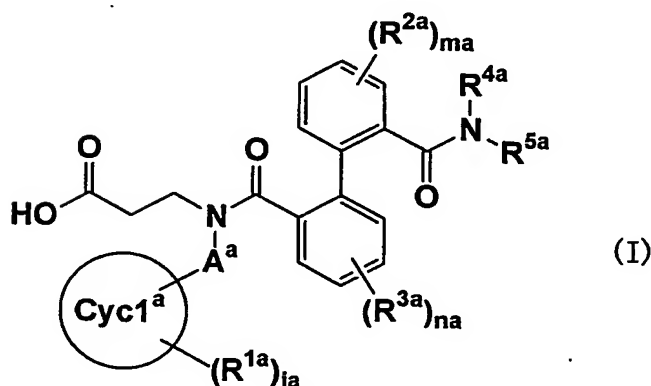
【発明の名称】 慢性疾患治療剤

【特許請求の範囲】

【請求項1】 EDG-2アンタゴニストからなる慢性喘息、糸球体腎炎、肥満、前立腺肥大症、動脈硬化の進行により起こる疾患、リウマチおよびアトピー性皮膚炎から選ばれる慢性疾患の治療および／または予防剤。

【請求項2】 EDG-2アンタゴニストが、一般式(I)

【化1】



(式中、 $A^a$ は、

(1) C1～6アルキレン、(2) C2～6アルケニレン、または(3) C2～6アルキニレンを表わし(ただし、 $A^a$ は1～3個のC1～4アルキルによって置換されてもよい。)、

$Cyc1^a$ は、(1) C3～15の炭素環、または(2) 1～4個の窒素原子、1～2個の酸素原子および／または1～2個の硫黄原子を含む3～15員の複素環を表わし、

$R^{1a}$ は、

(1) C1～4アルキル、(2)ハロゲン原子、(3)シアノ、(4)トリハロメチル、(5)  $-OR^{6a}$ 、(6)  $-SR^{7a}$ 、(7)  $-NR^{8a}R^{9a}$ 、(8)ニトロ、(9)  $-COOR^{10a}$ 、(10)  $-CONR^{11a}R^{12a}$ 、(11)  $-NR^{13a}COR^{14a}$ 、(12)  $-SO_2NR^{15a}R^{16a}$ 、(13)  $-NR^{17a}SO_2R^{18a}$ 、(14)  $-S(O)R^{19a}$ 、または(15)  $-SO_2R^{20a}$ を表わし、

$R^{6a}$ 、 $R^{7a}$ 、 $R^{8a}$ 、 $R^{9a}$ 、 $R^{10a}$ 、 $R^{11a}$ 、 $R^{12a}$ 、 $R^{13a}$ 、 $R^{14a}$ 、 $R^{15a}$ 、 $R^{16a}$

、 $R^{17a}$ 、 $R^{18a}$ 、 $R^{19a}$ および $R^{20a}$ は、それぞれ独立して、

(1)水素原子、または(2)C 1～4 アルキルを表わし、

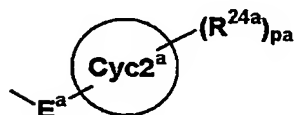
$R^{2a}$ および $R^{3a}$ は、それぞれ独立して、

(1)C 1～4 アルキル、(2)C 1～4 アルコキシ、または(3)ハロゲン原子を表わし、

$R^{4a}$ および $R^{5a}$ は、それぞれ独立して、

(1)水素原子、(2)C 1～4 アルキル、(3)C 2～4 アルケニル、(4)C 2～4 アルキニル、(5)-OR<sup>21a</sup>によって置換されたC 1～4 アルキル、(6)-NR<sup>22a</sup>R<sup>23a</sup>によって置換されたC 1～4 アルキル、または(7)

【化 2】



を表わすか、

$R^{4a}$ と $R^{5a}$ はそれらが結合する窒素原子と一緒にあって、3～15員の単環、二環式または三環式複素環（ただし、該複素環は少なくとも一つの窒素原子を含有し、-OR<sup>25a</sup>によって置換されたC 1～4 アルキルによって置換されてもよい。）を表わし、

$R^{21a}$ 、 $R^{22a}$ 、 $R^{23a}$ および $R^{25a}$ は、それぞれ独立して、

(1)水素原子、(2)C 1～4 アルキル、(3)C 2～6 アシル、または(4)トリハロアセチルを表わし、

$E^a$ は、

(1)単結合、(2)C 1～6 アルキレン、(3)C 2～6 アルケニレン、または(4)C 2～6 アルキニレンを表わし（ただし、 $E^a$ は1～3個の(1)C 1～4 アルキル、または(2)-OR<sup>26a</sup>によって置換されたC 1～4 アルキルによって置換されてもよい。）

$R^{26a}$ は、(1)水素原子、(2)C 1～4 アルキル、(3)C 2～6 アシル、または(4)トリハロアセチルを表わし、

Cyc 2<sup>a</sup>は、(1)C 3～15の炭素環、または(2)1～4個の窒素原子、1～2

個の酸素原子および／または 1 ～ 2 個の硫黄原子を含む 3 ～ 1 5 員の複素環を表わし、

$R^{24a}$  は、

(1) C 1 ～ 4 アルキル、(2) ハロゲン原子、(3) シアノ、(4) トリハロメチル、(5)  $-OR^{27a}$ 、(6)  $-SR^{28a}$ 、(7)  $-NR^{29a}R^{30a}$ 、(8) ニトロ、(9)  $-COOR^{31a}$ 、(10)  $-CONR^{32a}R^{33a}$ 、(11)  $-NR^{34a}COR^{35a}$ 、(12)  $-SO_2NR^{36a}R^{37a}$ 、(13)  $-NR^{38a}SO_2R^{39a}$ 、(14)  $-S(O)R^{40a}$ 、または (15)  $-SO_2R^{41a}$  を表わし、

$R^{27a}$ 、 $R^{28a}$ 、 $R^{29a}$ 、 $R^{30a}$ 、 $R^{31a}$ 、 $R^{32a}$ 、 $R^{33a}$ 、 $R^{34a}$ 、 $R^{35a}$ 、 $R^{36a}$ 、 $R^{37a}$ 、 $R^{38a}$ 、 $R^{39a}$ 、 $R^{40a}$  および  $R^{41a}$  は、それぞれ独立して、

(1) 水素原子、または (2) C 1 ～ 4 アルキルを表わし、

$i_a$  は、0 または 1 ～ 5 の整数を表わし、

$m_a$  は、0 または 1 ～ 4 の整数を表わし、

$n_a$  は、0 または 1 ～ 4 の整数を表わし、

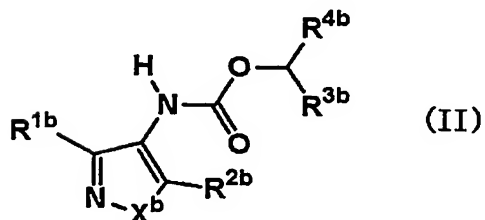
$p_a$  は、0 または 1 ～ 5 の整数を表わす。

ただし、 $i_a$  が 2 以上を表わすとき、 $R^{1a}$  は同じでも異なってもよく、 $m_a$  が 2 以上を表わすとき、 $R^{2a}$  は同じでも異なってもよく、 $n_a$  が 2 以上を表わすとき、 $R^{3a}$  は同じでも異なってもよく、 $p_a$  が 2 以上を表わすとき、 $R^{24a}$  は同じでも異なってもよい。]

で示される  $\beta$ -アラニン誘導体、それらのプロドラッグまたはそれらの非毒性塩である請求項 1 に記載の慢性疾患の治療および／または予防剤。

【請求項 3】 EDG-2 アンタゴニストが、一般式 (II)

【化 3】



(式中、 $R^{1b}$  は、置換基を有してもよい C 1 ～ 2 0 アルキル、アリール、複素環、アルキルオキシ、アリールオキシ、アルキルチオ、アリールチオ、またはハロ

ゲン原子を表わし、

$R^{2b}$ は、置換基を有してもよいアルキル、アリール、複素環、アルキルオキシ、アリールオキシ、またはハロゲン原子を表わし、

$R^{3b}$ は、水素原子、低級アルキルまたはハロゲン化アルキルを表わし、

$R^{4b}$ は、(a) 置換基を有してもよいフェニル、アリール、または複素環、(b) 置換あるいは無置換のアルキル、および(c) 置換あるいは無置換のアルケニルからなる群から選択される基を表わし、

$X^b$ は酸素原子または硫黄原子を表わす。ただし、 $R^{3b}$ と $R^{4b}$ は、それらが結合している炭素原子と一緒になって5～10員の環を形成してもよく、また、 $R^{3b}$ が水素原子である場合、 $R^{4b}$ はメチル基を除く基を表わす。)で示される化合物、またはその非毒性塩である請求項1に記載の慢性疾患の治療および/または予防剤。

#### 【発明の詳細な説明】

##### 【0001】

#### 【発明の属する技術分野】

本発明は、EDG (Endothelial differentiation gene) - 2 アンタゴニストからなる慢性疾患の治療および/または予防剤に関する。さらに詳しく言えば、EDG - 2 アンタゴニストからなる細胞の増殖亢進により引き起こされ慢性化する慢性喘息、糸球体腎炎、肥満、前立腺肥大症、動脈硬化の進行によって起こる疾患、リウマチおよびアトピー性皮膚炎から選ばれる慢性疾患の治療および/または予防剤に関する。

##### 【0002】

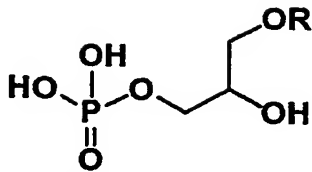
#### 【発明の背景および従来技術】

細胞膜よりホスホオリパーゼの働きによりエイコサノイド、血小板活性化因子 (Platelet activating factor ; PAF) など様々な脂質メディエーターが産生されることが知られている。

##### 【0003】

一般式

## 【化4】



(式中、Rはアシル基、アルケニル基またはアルキル基を表わす。)で示されるリゾホスファチジン酸は細胞膜または血中で産生され、情報伝達物質として作用し、細胞内に様々なシグナルを伝えることのできる脂質である。その中で、天然に存在するものはL- $\alpha$ -LPAである。また、式中のRは2位の水酸基へ転位することが知られている。

## 【0004】

最近LPA受容体として3種の遺伝子が同定され、LPAの様々な生理作用がこれらLPA受容体を介していることが分かってきた。3種のLPA受容体はEDG-2、4、7 (LPA<sub>1</sub>、LPA<sub>2</sub>、LPA<sub>3</sub>) と呼ばれており、スフィンゴシン-1リン酸受容体のEDG-1、3、5、6、8 (SP<sub>1</sub>、SP<sub>3</sub>、SP<sub>2</sub>、SP<sub>4</sub>、SP<sub>5</sub>) と共にEDG受容体ファミリーを形成している。なお、EDG-2はLPA<sub>1</sub>、VZG-1とも呼ばれている [Mol Pharmacol Dec; 58 (6), 1188-96(2000)]。LPAはLPA受容体であるEDG-2、4または7と結合し、同受容体にカップリングしたGタンパク質を介して細胞内にシグナルを伝える。LPA受容体に結合し得るGタンパク質としてはG<sub>s</sub>、G<sub>i</sub>、G<sub>q</sub>、G<sub>12/13</sub>などが知られており、この多様性がLPAの作用機構に深く関わっている。また、EDG-2、4および7は生体中、広範囲に分布しているが、サブタイプによって局在様式が異なることから、それぞれの受容体の役割は組織により異なると考えられている。しかし、未だ各組織に局在する受容体サブタイプの種類は特定されていない。

## 【0005】

気道平滑筋細胞、メサンギウム細胞、脂肪細胞および血管平滑筋の増殖にLPAが関与していることは知られている [Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. 2002 282(1):L91; Clin. Science 1999 96, 431; J.Clin.Invest. 1998 101, 1431; Am. J. Physiol. (267 Cell Physiol.36):C204,1994]。しかし、LPA受



容体のうちどのサブタイプを介してその作用が引き起こされているのかまでは明らかにされていなかった。

## 【 0 0 0 6 】

W001/60819号明細書には、L P A 受容体拮抗作用を有する化合物が脳腫瘍細胞および卵巣癌細胞の増殖を抑制することが記載されている。しかし、該明細書中では、癌細胞を用いたその増殖抑制の実験しか行われていない。癌細胞とは分化した細胞の本来の表現型が失われて、永久に分裂を繰り返す増殖能を持った細胞であり、正常組織由来の培養細胞株とは性質が異なる。従って、これらの癌細胞での増殖抑制の結果から、正常組織由来の培養細胞株においても同様の結果が得られるとは限らず、それらの結果は容易に、かつ一義的に結びつけられるものではない。

## 【 0 0 0 7 】

## 【発明の開示】

本発明者らは気道平滑筋細胞、メサンギウム細胞および脂肪細胞以外の L P A が関与する細胞について種々検討した結果、前立腺ストローマ細胞、冠動脈平滑筋細胞、滑膜細胞、樹状細胞が L P A によりその増殖が亢進されていることを見出した。

## 【 0 0 0 8 】

L P A との関与が知られていた気道平滑筋細胞、メサンギウム細胞および脂肪細胞においていずれの L P A 受容体サブタイプを介してその増殖が亢進しているのかは全く解明されていなかったし、今回 L P A との関係が明らかになった上記細胞においても、その解明はもちろんされていなかった。

## 【 0 0 0 9 】

本発明者らは上記組織培養細胞株において、L P A がその受容体のうちどのサブタイプを介して作用を引き起こしているのかを解明すべく種々検討を行なった結果、それが E D G - 2 であることを見出した。本発明者らは、これらの細胞の増殖亢進が、L P A 受容体サブタイプの E D G - 2 を介していることを今回初めて明らかにした。これらのことは従来技術から全く予期できないことであり、今回、本発明者等が実験によって初めて確認したことである。このことより、E D

G-2 を介して LPA の作用が組織細胞に伝わる結果、その細胞の増殖が亢進されることによって引き起こされる疾患に、EDG-2 アンタゴニストが有効であると考えられる。

【0010】

すなわち、本発明は EDG-2 アンタゴニストからなる細胞の増殖亢進により引き起こされ慢性化する疾患、具体的には慢性喘息、糸球体腎炎、肥満、前立腺肥大症、動脈硬化の進行により起こる疾患、リウマチおよびアトピー性皮膚炎から選ばれる慢性疾患の治療および／または予防剤に関する。

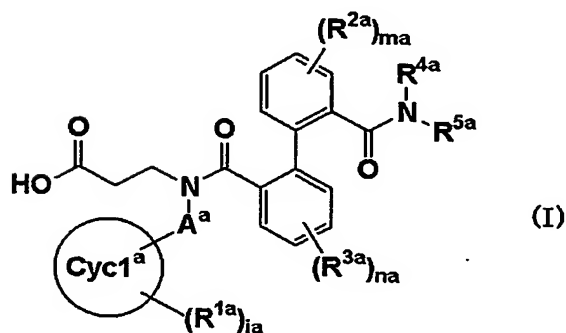
【0011】

本発明で使用する EDG-2 アンタゴニストとしては、EDG-2 に作用し、EDG-2 を不活性化するものであれば何でも構わない。例えば、以下の (I) および (II) の化合物が好適に用いられる。

【0012】

(1) 一般式 (I)

【化5】



(式中、 $A^a$ は、

(1) C1～6 アルキレン、(2) C2～6 アルケニレン、または(3) C2～6 アルキニレンを表わし (ただし、 $A^a$ は1～3個のC1～4 アルキルによって置換されてもよい。)、

$Cyc1^a$ は、(1) C3～15 の炭素環、または(2) 1～4 個の窒素原子、1～2 個の酸素原子および／または1～2 個の硫黄原子を含む3～15 員の複素環を表わし、

【0013】

$R^{1a}$ は、

(1) C 1～4 アルキル、(2) ハロゲン原子、(3) シアノ、(4) トリハロメチル、(5)  $-OR^{6a}$ 、(6)  $-SR^{7a}$ 、(7)  $-NR^{8a}R^{9a}$ 、(8) ニトロ、(9)  $-COOR^{10a}$ 、(10)  $-CONR^{11a}R^{12a}$ 、(11)  $-NR^{13a}COR^{14a}$ 、(12)  $-SO_2NR^{15a}R^{16a}$ 、(13)  $-NR^{17a}SO_2R^{18a}$ 、(14)  $-S(O)R^{19a}$ 、または(15)  $-SO_2R^{20a}$ を表わし、

【0014】

$R^{6a}$ 、 $R^{7a}$ 、 $R^{8a}$ 、 $R^{9a}$ 、 $R^{10a}$ 、 $R^{11a}$ 、 $R^{12a}$ 、 $R^{13a}$ 、 $R^{14a}$ 、 $R^{15a}$ 、 $R^{16a}$ 、 $R^{17a}$ 、 $R^{18a}$ 、 $R^{19a}$ および $R^{20a}$ は、それぞれ独立して、

(1) 水素原子、または(2) C 1～4 アルキルを表わし、

$R^{2a}$ および $R^{3a}$ は、それぞれ独立して、

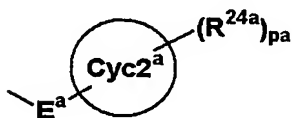
(1) C 1～4 アルキル、(2) C 1～4 アルコキシ、または(3) ハロゲン原子を表わし、

【0015】

$R^{4a}$ および $R^{5a}$ は、それぞれ独立して、

(1) 水素原子、(2) C 1～4 アルキル、(3) C 2～4 アルケニル、(4) C 2～4 アルキニル、(5)  $-OR^{21a}$ によって置換されたC 1～4 アルキル、(6)  $-NR^{22a}R^{23a}$ によって置換されたC 1～4 アルキル、または(7)

【化6】



を表わすか、

$R^{4a}$ と $R^{5a}$ はそれらが結合する窒素原子と一緒にあって、3～15員の単環、二環式または三環式複素環（ただし、該複素環は少なくとも一つの窒素原子を含有し、 $-OR^{25a}$ によって置換されたC 1～4 アルキルによって置換されてもよい。）を表わし、

【0016】

$R^{21a}$ 、 $R^{22a}$ 、 $R^{23a}$ および $R^{25a}$ は、それぞれ独立して、

(1)水素原子、(2)C 1～4 アルキル、(3)C 2～6 アシル、または(4)トリハロアセチルを表わし、

【0017】

$E^a$ は、

(1)単結合、(2)C 1～6 アルキレン、(3)C 2～6 アルケニレン、または(4)C 2～6 アルキニレンを表わし(ただし、 $E^a$ は1～3個の(1)C 1～4 アルキル、または(2)-OR<sup>26a</sup>によって置換されたC 1～4 アルキルによって置換されてもよい。)、

$R^{26a}$ は、(1)水素原子、(2)C 1～4 アルキル、(3)C 2～6 アシル、または(4)トリハロアセチルを表わし、

【0018】

Cyc<sup>2a</sup>は、(1)C 3～15の炭素環、または(2)1～4個の窒素原子、1～2個の酸素原子および/または1～2個の硫黄原子を含む3～15員の複素環を表わし、

【0019】

$R^{24a}$ は、

(1)C 1～4 アルキル、(2)ハロゲン原子、(3)シアノ、(4)トリハロメチル、(5)-OR<sup>27a</sup>、(6)-SR<sup>28a</sup>、(7)-NR<sup>29a</sup>R<sup>30a</sup>、(8)ニトロ、(9)-COOR<sup>31a</sup>、(10)-CONR<sup>32a</sup>R<sup>33a</sup>、(11)-NR<sup>34a</sup>COR<sup>35a</sup>、(12)-SO<sub>2</sub>NR<sup>36a</sup>R<sup>37a</sup>、(13)-NR<sup>38a</sup>SO<sub>2</sub>R<sup>39a</sup>、(14)-S(O)R<sup>40a</sup>、または(15)-SO<sub>2</sub>R<sup>41a</sup>を表わし、

【0020】

$R^{27a}$ 、 $R^{28a}$ 、 $R^{29a}$ 、 $R^{30a}$ 、 $R^{31a}$ 、 $R^{32a}$ 、 $R^{33a}$ 、 $R^{34a}$ 、 $R^{35a}$ 、 $R^{36a}$ 、 $R^{37a}$ 、 $R^{38a}$ 、 $R^{39a}$ 、 $R^{40a}$ および $R^{41a}$ は、それぞれ独立して、

(1)水素原子、または(2)C 1～4 アルキルを表わし、

【0021】

$i_a$ は、0または1～5の整数を表わし、

$m_a$ は、0または1～4の整数を表わし、

$n_a$ は、0または1～4の整数を表わし、

$p a$  は、0 または 1～5 の整数を表わす。

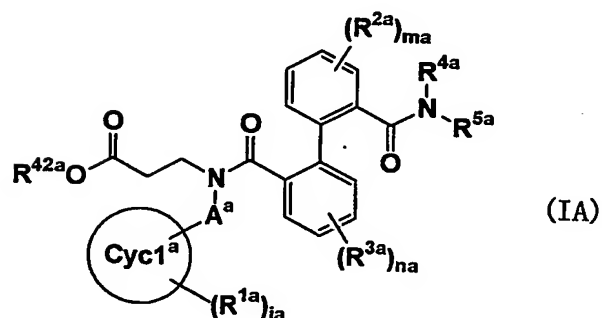
ただし、 $i a$  が 2 以上を表わすとき、 $R^{1a}$  は同じでも異なってもよく、 $m a$  が 2 以上を表わすとき、 $R^{2a}$  は同じでも異なってもよく、 $n a$  が 2 以上を表わすとき、 $R^{3a}$  は同じでも異なってもよく、 $p a$  が 2 以上を表わすとき、 $R^{24a}$  は同じでも異なってもよい。]

で示される  $\beta$ -アラニン誘導体、それらのプロドラッグまたはそれらの非毒性塩

【0022】

一般式 (I) で示される化合物のプロドラッグとは、例えば、一般式 (IA)

【化7】

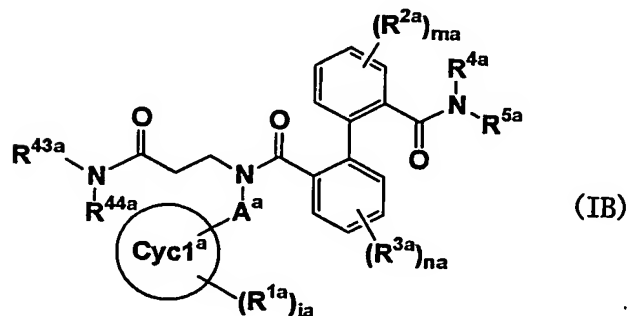


(式中、 $R^{42a}$  は (1) C 1～8 アルキル、または (2) 1～2 個の水酸基またはアミノによって置換された C 1～8 アルキルを表わし、その他の記号は前記と同じ意味を表わす。)、

【0023】

一般式 (IB)

【化8】



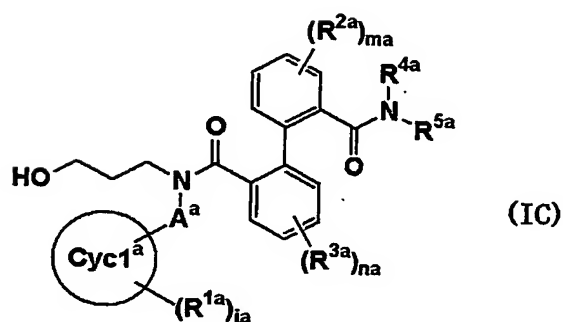
(式中、 $R^{43a}$  および  $R^{44a}$  は、それぞれ独立して、(1) 水素原子、(2) C 1～8 ア

ルキル、または(3) 1～2個の水酸基またはアミノによって置換されたC 1～8  
アルキルを表わし、その他の記号は前記と同じ意味を表わす。)、および

【0024】

一般式 (IC)

【化9】

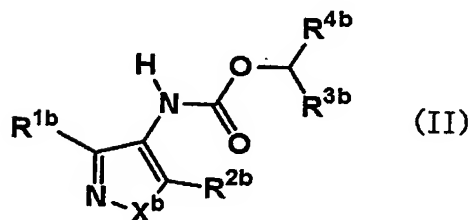


(式中、全ての記号は前記と同じ意味を表わす。)で示される化合物が挙げられる。

【0025】

(2) 一般式 (II)

【化10】



(式中、R<sup>1b</sup>は、置換基を有してもよいC 1～20アルキル、アリール、複素環、アルキルオキシ、アリールオキシ、アルキルチオ、アリールチオ、またはハロゲン原子を表わし、

【0026】

R<sup>2b</sup>は、置換基を有してもよいアルキル、アリール、複素環、アルキルオキシ、アリールオキシ、またはハロゲン原子を表わし、

R<sup>3b</sup>は、水素原子、低級アルキルまたはハロゲン化アルキルを表わし、

R<sup>4b</sup>は、(a) 置換基を有してもよいフェニル、アリール、または複素環、(b) 置換あるいは無置換のアルキル、および(c) 置換あるいは無置換のアルケニ

ルからなる群から選択される基を表わし、

【0027】

$X^b$ は酸素原子または硫黄原子を表わす。ただし、 $R^{3b}$ と $R^{4b}$ は、それらが結合している炭素原子と一緒にあって5～10員の環を形成してもよく、また、 $R^{3b}$ が水素原子である場合、 $R^{4b}$ はメチル基を除く基を表わす。)で示される化合物、またはその非毒性塩。

【0028】

一般式(I)および(II)で示される化合物は、公知の方法で非毒性塩に変換される。非毒性塩は薬学的に許容され、水溶性のものが好ましい。

【0029】

本発明化合物の非毒性塩としては、例えば、アルカリ金属(カリウム、ナトリウム、リチウム等)の塩、アルカリ土類金属(カルシウム、マグネシウム等)の塩、アンモニウム塩(テトラメチルアンモニウム塩、テトラブチルアンモニウム塩等)、有機アミン(トリエチルアミン、メチルアミン、ジメチルアミン、シクロペンチルアミン、ベンジルアミン、フェネチルアミン、ピペリジン、モノエタノールアミン、ジエタノールアミン、トリス(ヒドロキシメチル)メチルアミン、リジン、アルギニン、N-メチル-D-グルカミン等)の塩、酸付加物塩(無機酸塩(塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、硫酸塩、リン酸塩、硝酸塩等)、有機酸塩(酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、乳酸塩、酒石酸塩、シュウ酸塩、フマル酸塩、マレイン酸塩、安息香酸塩、クエン酸塩、メタンサルホン酸塩、エタンサルホン酸塩、ベンゼンサルホン酸塩、トルエンサルホン酸塩、イセチオン酸塩、グルクロン酸塩、グルコン酸塩等)等)が挙げられる。

本発明化合物の非毒性塩には、溶媒和物、または上記本発明化合物のアルカリ(土類)金属塩、アンモニウム塩、有機アミン塩、酸付加物塩の溶媒和物も含まれる。

【0030】

溶媒和物是非毒性かつ水溶性であることが好ましい。適当な溶媒和物としては、例えば水、アルコール系溶媒(エタノール等)等の溶媒和物が挙げられる。

【0031】

一般式 (I) で示される化合物中、好ましい化合物としては以下のものが挙げられる。

(1) 3-(N-(2-(2-(4-クロロベンジルアミノ)カルボニル)フェニル)フェニル)カルボニル-N-(2-(2-メトキシフェニル)エチル)アミノ)プロパン酸、

(2) 3-(N-(2-(2-(4-クロロベンジルアミノ)カルボニル)フェニル)フェニル)カルボニル-N-(2-(2,4-ジクロロフェニル)エチル)アミノ)プロパン酸、

(3) 3-(N-(2-(2-((1R)-1-(4-メチルフェニル)エチルアミノ)カルボニル)フェニル)フェニル)カルボニル-N-(2-(2,4-ジクロロフェニル)エチル)アミノ)プロパン酸、

【0032】

(4) 3-(N-(2-(2-(ピリジン-3-イルメチルアミノ)カルボニル)フェニル)フェニル)カルボニル-N-(2-(4-エトキシフェニル)エチル)アミノ)プロパン酸、

(5) 3-(N-(2-(2-(4-クロロベンジルアミノ)カルボニル)フェニル)フェニル)カルボニル-N-(2-(4-エトキシフェニル)エチル)アミノ)プロパン酸、

(6) 3-(N-(2-(2-(4-クロロベンジルアミノ)カルボニル)フェニル)フェニル)カルボニル-N-(2-(2-メチルフェニル)エチル)アミノ)プロパン酸、

【0033】

(7) 3-(N-(2-(2-(ピリジン-3-イルメチルアミノ)カルボニル)フェニル)フェニル)カルボニル-N-(2-(2,5-ジメトキシフェニル)エチル)アミノ)プロパン酸、

(8) 3-(N-(2-(2-(4-クロロベンジルアミノ)カルボニル)フェニル)フェニル)カルボニル-N-(2-(2,5-ジメトキシフェニル)エチル)アミノ)プロパン酸、

(9) 3-(N-(2-(2-(4-メトキシベンジルアミノ)カルボニル)



フェニル) フェニル) カルボニル) -N-(2-(2, 5-ジメトキシフェニル) エチル) アミノ) プロパン酸、

## 【0034】

(10) 3-(N-(2-(2-(4-メチルベンジルアミノ) カルボニル) フェニル) フェニル) カルボニル) -N-(2-(2, 5-ジメトキシフェニル) エチル) アミノ) プロパン酸、

(11) 3-(N-(2-(2-(N-(1-メチルエチル) -N-ベンジルアミノ) カルボニル) フェニル) フェニル) カルボニル) -N-(2-(2, 5-ジメトキシフェニル) エチル) アミノ) プロパン酸、

(12) 3-(N-(2-(2-(4-(2, 2-ジメチルエチル) ベンジルアミノ) カルボニル) フェニル) フェニル) カルボニル) -N-(2-(2, 5-ジメトキシフェニル) エチル) アミノ) プロパン酸、

## 【0035】

(13) 3-(N-(2-(2-(3-フルオロベンジルアミノ) カルボニル) フェニル) フェニル) カルボニル) -N-(2-(2, 5-ジメトキシフェニル) エチル) アミノ) プロパン酸、

(14) 3-(N-(2-(2-(2-クロロベンジルアミノ) カルボニル) フェニル) フェニル) カルボニル) -N-(2-(2, 5-ジメトキシフェニル) エチル) アミノ) プロパン酸、

(15) 3-(N-(2-(2-(4-フルオロベンジルアミノ) カルボニル) フェニル) フェニル) カルボニル) -N-(2-(2, 5-ジメトキシフェニル) エチル) アミノ) プロパン酸、

## 【0036】

(16) 3-(N-(2-(2-(3-クロロベンジルアミノ) カルボニル) フェニル) フェニル) カルボニル) -N-(2-(2, 5-ジメトキシフェニル) エチル) アミノ) プロパン酸、

(17) 3-(N-(2-(2-(1R)-1-(4-メチルフェニル) エチルアミノ) カルボニル) フェニル) フェニル) カルボニル) -N-(2-(2, 5-ジメトキシフェニル) エチル) アミノ) プロパン酸、

(18) 3-(N-(2-(2-(1-(4-フルオロフェニル)エチルアミノ)カルボニル)フェニル)フェニル)カルボニル)-N-(2-(2,5-ジメトキシフェニル)エチル)アミノ)プロパン酸、

【0037】

(19) 3-(N-(2-(2-(ピリジン-3-イルメチルアミノ)カルボニル)フェニル)フェニル)カルボニル)-N-(2-(3-エトキシ-4-メトキシフェニル)エチル)アミノ)プロパン酸、

(20) 3-(N-(2-(2-(ピリジン-3-イルメチルアミノ)カルボニル)フェニル)フェニル)カルボニル)-N-(2-(3-メトキシ-4-エトキシフェニル)エチル)アミノ)プロパン酸、

(21) 3-(N-(2-(2-(4-クロロベンジルアミノ)カルボニル)フェニル)フェニル)カルボニル)-N-(2-(3-メトキシ-4-エトキシフェニル)エチル)アミノ)プロパン酸、

【0038】

(22) 3-(N-(2-(2-(4-メトキシベンジルアミノ)カルボニル)フェニル)フェニル)カルボニル)-N-(2-(3-メトキシ-4-エトキシフェニル)エチル)アミノ)プロパン酸、

(23) 3-(N-(2-(2-(4-メチルベンジルアミノ)カルボニル)フェニル)フェニル)カルボニル)-N-(2-(3-メトキシ-4-エトキシフェニル)エチル)アミノ)プロパン酸、

(24) 3-(N-(2-(2-(4-フルオロベンジルアミノ)カルボニル)フェニル)フェニル)カルボニル)-N-(2-(3-メトキシ-4-エトキシフェニル)エチル)アミノ)プロパン酸、

【0039】

(25) 3-(N-(2-(2-(1R)-1-(4-メチルフェニル)エチルアミノ)カルボニル)フェニル)フェニル)カルボニル)-N-(2-(3-メトキシ-4-エトキシフェニル)エチル)アミノ)プロパン酸、

(26) 3-(N-(2-(2-(1-(4-フルオロフェニル)エチルアミノ)カルボニル)フェニル)フェニル)カルボニル)-N-(2-(3-メトキシ

シ-4-エトキシフェニル) エチル) アミノ) プロパン酸、

(27) 3-(N-(2-(2-(ピリジン-3-イルメチルアミノ) カルボニル) フェニル) フェニル) カルボニル)-N-(2-(3,5-ジメトキシフェニル) エチル) アミノ) プロパン酸、

【0040】

(28) 3-(N-(2-(2-(4-クロロベンジルアミノ) カルボニル) フェニル) フェニル) カルボニル)-N-(2-(3,5-ジメトキシフェニル) エチル) アミノ) プロパン酸、

(29) 3-(N-(2-(2-((1R)-1-(4-メチルフェニル) エチルアミノ) カルボニル) フェニル) フェニル) カルボニル)-N-(2-(3,5-ジメトキシフェニル) エチル) アミノ) プロパン酸、

(30) 3-(N-(2-(2-(4-クロロベンジルアミノ) カルボニル) フェニル) フェニル) カルボニル)-N-(2-(2-エトキシフェニル) エチル) アミノ) プロパン酸、

【0041】

(31) 3-(N-(2-(2-(4-クロロベンジルアミノ) カルボニル) フェニル) フェニル) カルボニル)-N-(2-(3-エトキシフェニル) エチル) アミノ) プロパン酸、

(32) 3-(N-(2-(2-((1S)-1-フェニル-2-ヒドロキシエチルアミノ) カルボニル) フェニル) フェニル) カルボニル)-N-(ベンジル) アミノ) プロパン酸、

(33) 3-(N-(2-(2-(4-メチルベンジルアミノ) カルボニル) フェニル) フェニル) カルボニル)-N-(2-(4-エトキシフェニル) エチル) アミノ) プロパン酸またはそれらの非毒性塩。

【0042】

一般式(II)で示される化合物中、好ましい化合物としてはW001/60819号明細書の実施例に記載されている化合物が挙げられる。

中でも特に実施例115に記載の、メチル 3-( {4-[4-( { [1-(2-クロロフェニル) エトキシ] カルボニル} アミノ) -3-メチル-5-イソ

キサゾリル] ベンジル} スルファニル) プロパノエートが好ましい。

【0043】

本発明においては、特に指示しない限り異性体はこれをすべて包含する。例えば、アルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、アルキルチオ、アルキレン、アルケニレン、アルキニレンには直鎖のものおよび分枝鎖のものが含まれる。さらに、二重結合、環、縮合環における異性体（E、Z、シス、トランス体）、不斉炭素の存在等による異性体（R、S体、 $\alpha$ 、 $\beta$ 配置、エナンチオマー、ジアステレオマー）、旋光性を有する光学活性体（D、L、d、l体）、クロマトグラフ分離による極性体（高極性体、低極性体）、平衡化合物、回転異性体、これらの任意の割合の混合物、ラセミ混合物は、すべて本発明に含まれる。

【0044】

EDG-2を介するLPAの作用により、気道平滑筋細胞、メサングウム細胞、脂肪細胞、前立腺ストローマ細胞、冠動脈平滑筋細胞、滑膜細胞、樹状細胞等の増殖が亢進され、その結果、種々の慢性疾患が引き起こされる。具体的には、慢性喘息、糸球体腎炎、肥満、前立腺肥大症、動脈硬化の進行により起こる疾患（例えば、狭心症、不安定狭心症、心筋梗塞、脳梗塞、大動脈瘤、腎梗塞）、リウマチ、アトピー性皮膚炎等が引き起こされる。よって、EDG-2アンタゴニストは慢性喘息、糸球体腎炎、肥満、前立腺肥大症、動脈硬化の進行によって起こる疾患（例えば、狭心症、不安定狭心症、心筋梗塞、脳梗塞、大動脈瘤、腎梗塞）、リウマチおよびアトピー性皮膚炎から選ばれるの慢性疾患の治療および／または予防に有用である。従って、EDG-2アンタゴニスト作用を有する一般式（I）および一般式（II）で示される化合物は慢性喘息、糸球体腎炎、肥満、前立腺肥大症、動脈硬化の進行によって起こる疾患（例えば、狭心症、不安定狭心症、心筋梗塞、脳梗塞、大動脈瘤、腎梗塞）、リウマチおよびアトピー性皮膚炎から選ばれる慢性疾患の治療および／または予防に有用である。

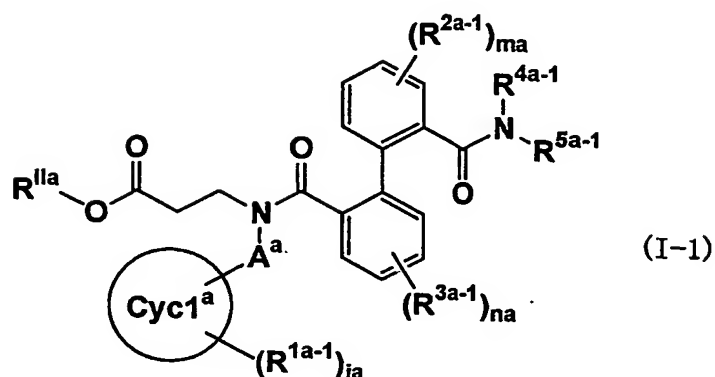
【0045】

一般式（I）で示される化合物およびそのプロドラッグは、以下の方法により製造することができる。

【0046】

一般式 (I) で示される化合物は、一般式 (I-1)

【化 11】



(式中、 $R^{IIa}$ はカルボキシ基の保護基を表わし、 $R^{1a-1}$ 、 $R^{2a-1}$ 、 $R^{3a-1}$ 、 $R^{4a-1}$ 、および $R^{5a-1}$ は、 $R^{1a}$ 、 $R^{2a}$ 、 $R^{3a}$ 、 $R^{4a}$ 、および $R^{5a}$ と同じ意味を表わすが、 $R^{1a-1}$ 、 $R^{2a-1}$ 、 $R^{3a-1}$ 、 $R^{4a-1}$ 、および $R^{5a-1}$ によって表わされる基に含まれる水酸基、アミノ基またはチオール基は保護が必要な場合には保護されているものとする。その他の記号は前記と同じ意味を表わす。)で示される化合物をカルボキシ基の保護基の脱保護反応に付し、さらに必要に応じて保護基の脱保護反応に付すことにより製造することができる。

カルボキシ基の保護基としては、例えばメチル基、エチル基、アリル基、*t*-ブチル基、トリクロロエチル基、ベンジル (Bn) 基、フェナシル基、*p*-メトキシベンジル基、トリチル基、2-クロロトリチル基またはそれらの構造が結合した固相担体等が挙げられる。

【0047】

カルボキシ基の保護基の脱保護反応は、よく知られており、例えば、

- (1) アルカリ加水分解による脱保護反応、
- (2) 酸性条件下における脱保護反応、
- (3) 加水素分解による脱保護反応、
- (4) 金属を用いる脱保護反応、
- (5) 金属錯体を用いる脱保護反応等が挙げられる。

【0048】

これらの方法を具体的に説明すると、

(1) アルカリ加水分解による脱保護反応は、例えば、有機溶媒（メタノール、テトラヒドロフラン、ジオキサン等）中、アルカリ金属の水酸化物（水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化リチウム等）、アルカリ土類金属の水酸化物（水酸化バリウム、水酸化カルシウム等）または炭酸塩（炭酸ナトリウム、炭酸カリウム等）あるいはその水溶液もしくはこれらの混合物を用いて、0～40℃の温度で行なわれる。

## 【0049】

(2) 酸条件下での脱保護反応は、例えば、有機溶媒（ジクロロメタン、クロロホルム、ジオキサン、酢酸エチル、アニソール等）中、有機酸（酢酸、トリフルオロ酢酸、メタンスルホン酸、p-トシル酸等）、または無機酸（塩酸、硫酸等）もしくはこれらの混合物（臭化水素／酢酸等）中、0～100℃の温度で行なわれる。

## 【0050】

(3) 加水素分解による脱保護反応は、例えば、溶媒（エーテル系（テトラヒドロフラン、ジオキサン、ジメトキシエタン、ジエチルエーテル等）、アルコール系（メタノール、エタノール等）、ベンゼン系（ベンゼン、トルエン等）、ケトン系（アセトン、メチルエチルケトン等）、ニトリル系（アセトニトリル等）、アミド系（ジメチルホルムアミド等）、水、酢酸エチル、酢酸またはそれらの2以上の混合溶媒等）中、触媒（パラジウム-炭素、パラジウム黒、水酸化パラジウム、酸化白金、ラネーニッケル等）の存在下、常圧または加圧下の水素雰囲気下またはギ酸アンモニウム存在下、0～200℃の温度で行なわれる。

## 【0051】

(4) 金属を用いる脱保護反応は、例えば、酸性溶媒（酢酸、pH4.2～7.2の緩衝液またはそれらの溶液とテトラヒドロフラン等の有機溶媒との混合液）中、粉末亜鉛の存在下、必要であれば超音波をかけながら、0～40℃の温度で行なわれる。

## 【0052】

(5) 金属錯体を用いる脱保護反応は、例えば、有機溶媒（ジクロロメタン、ジメチルホルムアミド、テトラヒドロフラン、酢酸エチル、アセトニトリル、ジオ

キサン、エタノール等)、水またはそれらの混合溶媒中、トラップ試薬(水素化トリブチルスズ、トリエチルシラン、ジメドン、モルホリン、ジエチルアミン、ピロリジン等)、有機酸(酢酸、ギ酸、2-エチルヘキサン酸等)および/または有機酸塩(2-エチルヘキサン酸ナトリウム、2-エチルヘキサン酸カリウム等)の存在下、ホスフィン系試薬(トリフェニルホスフィン等)の存在下または非存在下、金属錯体(テトラキストリフェニルホスフィンパラジウム(0)、二塩化ビス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(II)、酢酸パラジウム(II)、塩化トリス(トリフェニルホスフィン)ロジウム(I)等)を用いて、0~40℃の温度で行なわれる。

## 【0053】

また、上記以外にも、例えば、T. W. Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, Wiley, New York, 1999に記載された方法によって、脱保護反応を行なうことができる。

当業者には容易に理解できることではあるが、これらの脱保護反応を使い分けることにより、目的とする本発明化合物が容易に製造することができる。

## 【0054】

保護基の脱保護反応は以下の方法によって行うことができる。

水酸基の保護基としては、例えば、メチル基、トリチル基、メトキシメチル(MOM)基、1-エトキシエチル(EE)基、メトキシエトキシメチル(MEM)基、2-テトラヒドロピラニル(THP)基、トリメチルシリル(TMS)基、トリエチルシリル(TEs)基、t-ブチルジメチルシリル(TBDMS)基、t-ブチルジフェニルシリル(TBDPS)基、アセチル(Ac)基、ピバロイル基、ベンゾイル基、ベンジル(Bn)基、p-メトキシベンジル基、アリルオキシカルボニル(Alloc)基、2, 2, 2-トリクロロエトキシカルボニル(Tr oc)基等が挙げられる。

## 【0055】

アミノ基の保護基としては、例えばベンジルオキシカルボニル基、t-ブトキシカルボニル基、アリルオキシカルボニル(Alloc)基、1-メチル-1-(4-ピフェニル)エトキシカルボニル(Bp oc)基、トリフルオロアセチル

基、9-フルオレニルメトキシカルボニル基 (Fmoc)、ベンジル (Bn) 基、p-メトキシベンジル基、ベンジルオキシメチル (BOM) 基、2-(トリメチルシリル) エトキシメチル (SEM) 基等が挙げられる。

## 【0056】

チオール基の保護基としては、例えばベンジル基、メトキシベンジル基、メトキシメチル (MOM) 基、2-テトラヒドロピラニル (THP) 基、ジフェニルメチル基、アセチル (Ac) 基が挙げられる。

## 【0057】

水酸基、アミノ基またはチオール基の保護基としては、上記した以外にも容易にかつ選択的に脱離できる基であれば特に限定されない。例えば、T. W. Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, Wiley, New York, 1999に記載されたものが用いられる。

## 【0058】

水酸基、アミノ基またはチオール基の保護基の脱保護反応は、よく知られており、例えば、

- (1) アルカリ加水分解による脱保護反応、
- (2) 酸性条件下における脱保護反応、
- (3) 加水素分解による脱保護反応、
- (4) シリル基の脱保護反応、
- (5) 金属を用いる脱保護反応、
- (6) 金属錯体を用いる脱保護反応等が挙げられる。

(1) ~ (3)、(5) および (6) の方法は前記した方法と同様に行われる。

## 【0059】

(4) シリル基の脱保護反応は、例えば、水と混和しうる有機溶媒 (テトラヒドロフラン、アセトニトリル等) 中、テトラブチルアンモニウムフルオリドを用いて、0~40℃の温度で行なわれる。

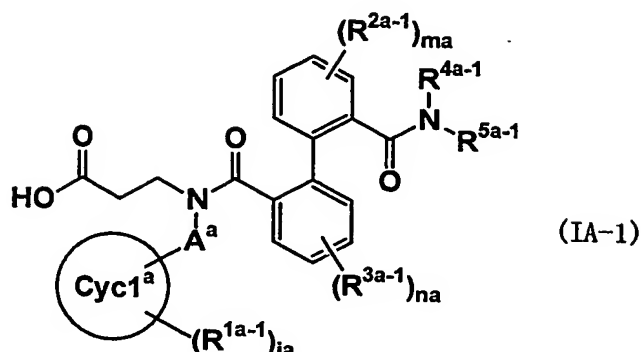
## 【0060】

一般式 (I) で示される化合物のプロドラッグである一般式 (IA) で示され



る化合物は、一般式 (IA-1)

【化 1 2】



(式中、すべての記号は前記と同じ意味を表わす。) で示される化合物と、

【0061】

一般式 (III)

【化 1 3】

$R^{42a-1}-OH$  (III)

(式中、 $R^{42a-1}$ は、 $R^{42a}$ と同じ意味を表わすが、 $R^{42a-1}$ によって表わされる基に含まれる水酸基、またはアミノ基は保護が必要な場合には保護されているものとする。その他の記号は前記と同じ意味を表わす。) で示される化合物をエステル化反応に付し、さらに必要に応じて保護基の脱保護反応に付すことにより製造することができる。

【0062】

エステル化反応は公知であり、例えば、

- (1) 酸ハライドを用いる方法、
- (2) 混合酸無水物を用いる方法、
- (3) 縮合剤を用いる方法等が挙げられる。

【0063】

これらの方法を具体的に説明すると、

(1) 酸ハライドを用いる方法は、例えば、カルボン酸を有機溶媒 (クロロホルム、ジクロロメタン、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン等) 中または無溶媒で、酸ハライド化剤 (オキザリルクロライド、チオニルクロライド等) と  $20^{\circ}C \sim$  還流温度で反応させ、得られた酸ハライドを塩基 (ピリジン、トリエチ

ルアミン、ジメチルアニリン、ジメチルアミノピリジン、ジイソプロピルエチルアミン等)の存在下、アルコールと不活性有機溶媒(クロロホルム、ジクロロメタン、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン等)中、0~40℃の温度で反応させることにより行なわれる。また、有機溶媒(ジオキサン、テトラヒドロフラン等)中、アルカリ水溶液(重曹水または水酸化ナトリウム溶液等)を用いて、酸ハライドと0~40℃で反応させることにより行なうこともできる。

## 【0064】

(2) 混合酸無水物を用いる方法は、例えば、カルボン酸を有機溶媒(クロロホルム、ジクロロメタン、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン等)中または無溶媒で、塩基(ピリジン、トリエチルアミン、ジメチルアニリン、ジメチルアミノピリジン、ジイソプロピルエチルアミン等)の存在下、酸ハライド(ピバロイルクロライド、トシルクロライド、メシルクロライド等)、または酸誘導体(クロロギ酸エチル、クロロギ酸イソブチル等)と、0~40℃で反応させ、得られた混合酸無水物を有機溶媒(クロロホルム、ジクロロメタン、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン等)中、アルコールと0~40℃で反応させることにより行なわれる。

## 【0065】

(3) 縮合剤を用いる方法は、例えば、カルボン酸とアルコールを、有機溶媒(クロロホルム、ジクロロメタン、ジメチルホルムアミド、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン等)中、または無溶媒で、塩基(ピリジン、トリエチルアミン、ジメチルアニリン、ジメチルアミノピリジン等)の存在下または非存在下、縮合剤(1, 3-ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)、1-エチル-3-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]カルボジイミド(EDC)、1, 1'-カルボニルジイミダゾール(CDI)、2-クロロ-1-メチルピリジニウムヨウ素、1-プロピルホスホン酸環状無水物(1-propanephosphonic acid cyclic anhydride, PPA)等)を用い、1-ヒドロキシベンズトリアゾール(HOBT)を用いるか用いないで、0~40℃で反応させることにより行なわれる。

## 【0066】

これら(1)、(2)および(3)の反応は、いずれも不活性ガス(アルゴン

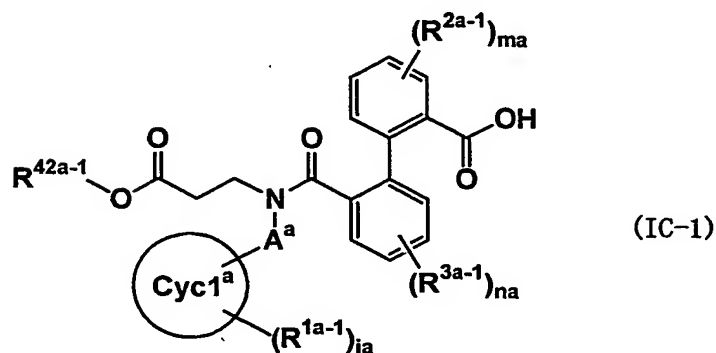
、窒素等) 雰囲気下、無水条件で行なうことが望ましい。

水酸基、アミノ基またはチオール基の保護基の脱保護反応は前記と同様の方法により行うことができる。

【0067】

一般式 (I A) で示される化合物は、一般式 (I C-1)

【化14】

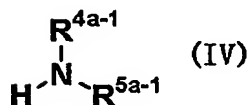


(式中、すべての記号は前記と同じ意味を表わす。) で示される化合物と、

【0068】

一般式 (I V)

【化15】



(式中、すべての記号は前記と同じ意味を表わす。) で示される化合物をアミド化反応に付し、さらに必要に応じて保護基の脱保護反応に付すことによっても製造することができる。

【0069】

アミド化反応は公知であり、例えば、

- (1) 酸ハライドを用いる方法、
- (2) 混合酸無水物を用いる方法、
- (3) 縮合剤を用いる方法等が挙げられる。

【0070】

これらの方法を具体的に説明すると、

- (1) 酸ハライドを用いる方法は、例えば、カルボン酸を有機溶媒 (クロロホ

ホルム、ジクロロメタン、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン等) 中または無溶媒で、酸ハライド化剤 (オキザリルクロライド、チオニルクロライド等) と  $-20^{\circ}\text{C}$  ~ 還流温度で反応させ、得られた酸ハライドを塩基 (ピリジン、トリエチルアミン、ジメチルアニリン、ジメチルアミノピリジン、ジイソプロピルエチルアミン等) の存在下、アミンと不活性有機溶媒 (クロロホルム、ジクロロメタン、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン等) 中、 $0 \sim 40^{\circ}\text{C}$  の温度で反応させることにより行なわれる。また、有機溶媒 (ジオキサン、テトラヒドロフラン等) 中、アルカリ水溶液 (重曹水または水酸化ナトリウム溶液等) を用いて、酸ハライドと  $0 \sim 40^{\circ}\text{C}$  で反応させることにより行なうこともできる。

## 【0071】

(2) 混合酸無水物を用いる方法は、例えば、カルボン酸を有機溶媒 (クロロホルム、ジクロロメタン、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン等) 中または無溶媒で、塩基 (ピリジン、トリエチルアミン、ジメチルアニリン、ジメチルアミノピリジン、ジイソプロピルエチルアミン等) の存在下、酸ハライド (ピバロイルクロライド、トシルクロライド、メシルクロライド等)、または酸誘導体 (クロロギ酸エチル、クロロギ酸イソブチル等) と、 $0 \sim 40^{\circ}\text{C}$  で反応させ、得られた混合酸無水物を有機溶媒 (クロロホルム、ジクロロメタン、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン等) 中、アミンと  $0 \sim 40^{\circ}\text{C}$  で反応させることにより行なわれる。

## 【0072】

(3) 縮合剤を用いる方法は、例えば、カルボン酸とアミンを、有機溶媒 (クロロホルム、ジクロロメタン、ジメチルホルムアミド、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン等) 中、または無溶媒で、塩基 (ピリジン、トリエチルアミン、ジメチルアニリン、ジメチルアミノピリジン等) の存在下または非存在下、縮合剤 (1, 3-ジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC)、1-エチル-3-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]カルボジイミド (EDC)、1, 1'-カルボニルジイミダゾール (CDI)、2-クロロ-1-メチルピリジニウムヨウ素、1-プロピルホスホン酸環状無水物 (PPA) 等) を用い、1-ヒドロキシベンズトリアゾール (HOBt) を用いるか用いないで、 $0 \sim 40^{\circ}\text{C}$  で反応させる

ことにより行なわれる。

【0073】

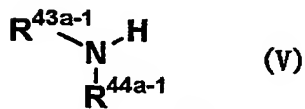
これら(1)、(2)および(3)の反応は、いずれも不活性ガス(アルゴン、窒素等)雰囲気下、無水条件で行なうことが望ましい。

水酸基またはアミノ基の保護基の脱保護反応は前記と同様の方法により行うことができる。

【0074】

一般式(I)で示される化合物のプロドラッグである一般式(ⅠB)で示される化合物は、一般式(ⅠA-1)で示される化合物と、一般式(V)

【化16】



(式中、 $\text{R}^{43a-1}$ および $\text{R}^{44a-1}$ は、 $\text{R}^{43a}$ および $\text{R}^{44a}$ と同じ意味を表わすが、 $\text{R}^{43a-1}$ および $\text{R}^{44a-1}$ によって表わされる基に含まれる水酸基、またはアミノ基は保護が必要な場合には保護されているものとする。その他の記号は前記と同じ意味を表わす。)で示される化合物をアミド化反応に付し、さらに必要に応じて保護基の脱保護反応に付すことにより製造することができる。

【0075】

アミド化反応は前記と同様の方法により行うことができる。

水酸基、アミノ基またはチオール基の保護基の脱保護反応は前記と同様の方法により行うことができる。

【0076】

一般式(I)で示される化合物のプロドラッグである一般式(ⅠC)で示される化合物は、一般式(ⅠA-1)で示される化合物を還元反応に付し、さらに必要に応じて保護基の脱保護反応に付すことにより製造することができる。

【0077】

この還元反応は公知であり、例えば、(1)カルボン酸を有機溶媒(クロロホルム、ジクロロメタン、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン等)中または無溶媒で、塩基(ピリジン、トリエチルアミン、ジメチルアニリン、ジメチルアミ

ノビリジン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリン等)の存在下または非存在下、酸ハライド(オキザリルクロライド、チオニルクロライド等)、酸無水物(無水酢酸等)、または酸誘導体(クロロギ酸エチル、クロロギ酸イソブチル等)と、 $-20\sim 60^{\circ}\text{C}$ で反応させ、得られた化合物を溶媒(メタノール、テトラヒドロフラン、水等)中、還元剤(水素化ホウ素ナトリウム、水素化ホウ素テトラブチルアンモニウム、水素化ホウ素カルシウム等)と $0\sim 60^{\circ}\text{C}$ で反応させることにより行われるか、(2)カルボン酸を有機溶媒(テトラヒドロフラン、トルエン等)中、還元剤(ジボラン、ボラン・ピリジン錯体、ボラン・メチルスルフィド錯体、水素化ジイソブチルアルミニウム等)と $-80\sim 0^{\circ}\text{C}$ で反応させることにより行われる。

## 【0078】

水酸基、アミノ基またはチオール基の保護基の脱保護反応は前記と同様の方法により行うことができる。

## 【0079】

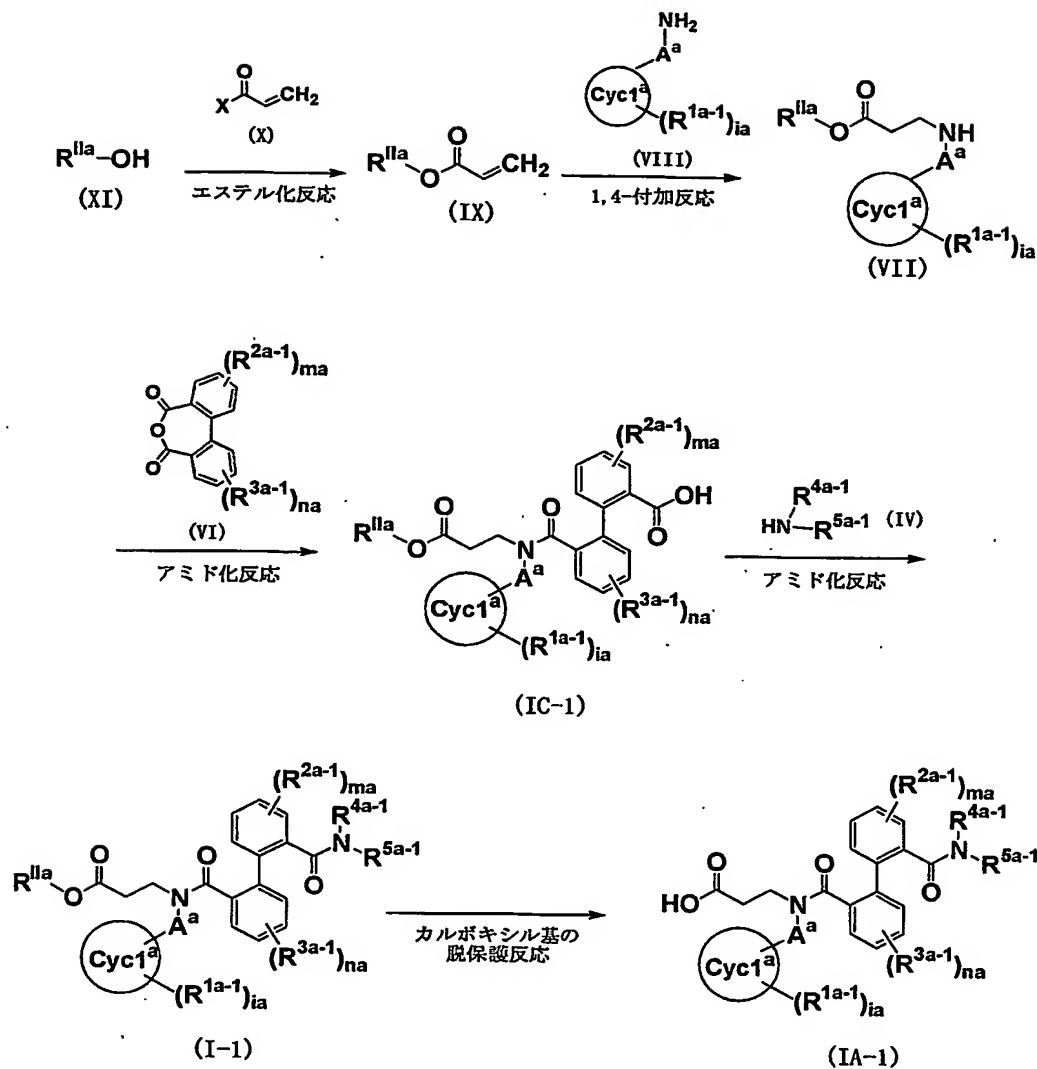
一般式(I-1)、(IA-1)および(IC-1)で示される化合物は、それ自体公知であるか、あるいは公知の方法により容易に製造することができる。例えば、以下の反応工程式1で示される方法により製造することができる。

反応工程式中、Xは脱離基(脱離基とは、ハロゲン原子、メシルオキシ基、トシルオキシ基等を意味する。)を表わし、その他の記号は前記と同じ意味を表わす。

## 【0080】

【化 17】

## 反応工程式 1



【0081】

反応工程式 1 中、出発原料または試薬として用いる化合物は公知であるか、あるいは公知の方法により容易に製造することができる。

【0082】

本明細書中の各反応において、反応生成物は通常の前製手段、例えば、常圧下または減圧下における蒸留、シリカゲルまたはケイ酸マグネシウムを用いた高速液体クロマトグラフィー、薄層クロマトグラフィー、あるいはカラムクロマトグラフィーまたは洗浄、再結晶等の方法により精製することができる。精製は各反

応ごとに行なってもよいし、いくつかの反応終了後に行なってもよい。

【0083】

一般式 (I I) で示される化合物は、W001/60819号明細書に記載の方法により製造することができる。

【0084】

[毒性]

本発明に用いられる化合物の毒性は低いものであり、医薬として使用するために十分に安全であると判断できる。

【0085】

[医薬品への適用]

本発明で使用される E D G - 2 アンタゴニストは、E D G - 2 に結合し拮抗作用を示すため、E D G - 2 を介する L P A の作用による細胞の増殖亢進により引き起こされ慢性化する疾患、例えば慢性喘息、糸球体腎炎、肥満、前立腺肥大症、動脈硬化の進行によって起こる疾患（例えば、狭心症、不安定狭心症、心筋梗塞、脳梗塞、大動脈瘤、腎梗塞）、リウマチおよびアトピー性皮膚炎から選ばれる慢性疾患の治療および／または予防に有用である。

【0086】

本発明に用いられる E D G - 2 アンタゴニストを上記の目的で用いるには、通常、全身的または局所的に、経口または非経口の形で投与される。

【0087】

さらに、本発明においては、E D G - 2 アンタゴニストは、

- 1) その化合物の予防および／または治療効果の補完および／または増強、
- 2) その化合物の動態・吸収改善、投与量の低減、および／または
- 3) その化合物の副作用の軽減を目的として他の薬剤と組み合わせた併用剤として投与してもよい。

【0088】

E D G - 2 アンタゴニストと他の薬剤の併用剤は、1つの製剤中に両成分を配合した配合剤の形態で投与してもよく、また別々の製剤にして投与する形態をとってもよい。この別々の製剤にして投与する場合には、同時投与および時間差に



よる投与が含まれる。また、時間差による投与は、EDG-2アンタゴニストを先に投与し、他の薬剤を後に投与してもよいし、他の薬剤を先に投与し、EDG-2アンタゴニストを後に投与してもよく、それぞれの投与方法は同じでも異なっているともよい。

## 【0089】

上記併用剤により、予防および／または治療効果を奏する疾患は特に限定されず、EDG-2アンタゴニストの予防および／または治療効果を補完および／または増強する疾患であればよい。

## 【0090】

EDG-2アンタゴニストの慢性喘息に対する予防および／または治療効果の補完および／または増強のための他の薬剤としては、ステロイド剤、 $\beta_2$ アドレナリン受容体刺激薬、ロイコトリエン受容体拮抗剤、トロンボキサン合成酵素阻害剤、トロンボキサン $A_2$ 受容体拮抗剤、メディエーター遊離抑制薬、抗ヒスタミン剤、キサンチン誘導体、抗コリン薬、サイトカイン阻害薬、プロスタグランジン類、フォルスコリン製剤、ホスホジエステラーゼ阻害剤、エラスターゼ阻害剤、メタロプロテイナーゼ阻害剤、去痰薬、抗生物質等が挙げられる。

## 【0091】

EDG-2アンタゴニストの前立腺肥大症に対する予防および／または治療効果の補完および／または増強のための他の薬剤としては、抗アンドロゲン剤、 $\alpha_1$ 受容体遮断薬、 $5\alpha$ -リダクターゼ阻害剤等が挙げられる。

## 【0092】

EDG-2アンタゴニストの動脈硬化の進行によって起こる疾患に対する予防および／または治療効果の補完および／または増強のための他の薬剤としては、HMG-CoA還元酵素阻害剤、フィブラート系製剤、プロブコール製剤、陰イオン交換樹脂、EPA製剤、ニコチン酸製剤、MTP (Microsomal Triglyceride Transfer Protein) 阻害剤、PPARアゴニスト製剤、その他の抗高コレステロール薬が挙げられる。

## 【0093】

EDG-2アンタゴニストのリウマチに対する予防および／または治療効果の

補完および／または増強のための他の薬剤としては、非ステロイド系抗炎症薬、疾患修飾性抗リウマチ剤（遅効性抗リウマチ剤）、ステロイド剤、免疫抑制剤、消炎酵素剤、軟骨保護剤、T細胞阻害剤、TNF $\alpha$ 阻害剤（抗TNF $\alpha$ 抗体等の蛋白質製剤を含む）、プロスタグランジン合成酵素阻害剤、IL-6阻害剤（抗IL-6受容体抗体等の蛋白質製剤を含む）、インターフェロン $\gamma$ 作動薬、IL-1阻害剤、プロスタグランジン類、ホスホジエステラーゼ阻害剤、メタロプロテイナーゼ等が挙げられる。

## 【0094】

EDG-2アンタゴニストのアトピー性皮膚炎に対する予防および／または治療効果の補完および／または増強のための他の薬剤としては、例えば、ステロイド剤、非ステロイド系抗炎症薬、免疫抑制剤、プロスタグランジン類、抗アレルギー剤、メディエーター遊離抑制薬、抗ヒスタミン剤、フォルスコリン製剤、ホスホジエステラーゼ阻害剤、NF- $\kappa$ Bなどのデコイ製剤、カンナビノイド-2受容体刺激剤等が挙げられる。

## 【0095】

ステロイド剤としては、例えば、外用薬として、プロピオン酸クロベタゾール、酢酸ジフロラゾン、フルオシノニド、フランカルボン酸モメタゾン、ジプロピオン酸ベタメタゾン、酪酸プロピオン酸ベタメタゾン、吉草酸ベタメタゾン、ジフルプレドナート、プデソニド、吉草酸ジフルコルトロン、アムシノニド、ハルシノニド、デキサメタゾン、プロピオン酸デキサメタゾン、吉草酸デキサメタゾン、酢酸デキサメタゾン、酢酸ヒドロコルチゾン、酪酸ヒドロコルチゾン、酪酸プロピオン酸ヒドロコルチゾン、プロピオン酸デプロドン、吉草酸酢酸プレドニゾロン、フルオシノロンアセトニド、プロピオン酸ベクロメタゾン、トリアムシノロンアセトニド、ピバル酸フルメタゾン、プロピオン酸アルクロメタゾン、酪酸クロベタゾン、プレドニゾロン、プロピオン酸ベクロメタゾン、フルドロキシコルチド等が挙げられる。

## 【0096】

内服薬、注射剤としては、酢酸コルチゾン、ヒドロコルチゾン、リン酸ヒドロコルチゾンナトリウム、コハク酸ヒドロコルチゾンナトリウム、酢酸フルドロコ

ルチゾン、プレドニゾン、酢酸プレドニゾン、コハク酸プレドニゾンナトリウム、ブチル酢酸プレドニゾン、リン酸プレドニゾンナトリウム、酢酸ハロプレドン、メチルプレドニゾン、酢酸メチルプレドニゾン、コハク酸メチルプレドニゾンナトリウム、トリアムシノロン、酢酸トリアムシノロン、トリアムシノロンアセトニド、デキサメサゾン、酢酸デキサメタゾン、リン酸デキサメタゾンナトリウム、パルミチン酸デキサメタゾン、酢酸パラメサゾン、ベタメタゾン等が挙げられる。

## 【0097】

吸入剤としては、プロピオン酸ベクロメタゾン、プロピオン酸フルチカゾン、ブデソニド、フルニソリド、トリアムシノロン、ST-126P、シクレソニド、デキサメタゾンパロミチオネート、モメタゾンフランカルボネート、プラステロンスルホネート、デフラザコート、メチルプレドニゾロンスレブタネート、メチルプレドニゾンナトリウムスクシネート等が挙げられる。

## 【0098】

$\beta_2$ アドレナリン受容体刺激薬としては、例えば、臭化水素酸フェノテロール、硫酸サルブタモール、硫酸テルブタリン、フマル酸フォルモテロール、キシナホ酸サルメテロール、硫酸イソプロテレノール、硫酸オルシプレナリン、硫酸クロルプレナリン、エピネフリン、塩酸トリメトキノール、硫酸ヘキソプレナリンメシル、塩酸プロカテロール、塩酸ツロブテロール、ツロブテロール、塩酸ピルブテロール、塩酸クレンブテロール、塩酸マブテロール、塩酸リトドリン、バンブテロール、塩酸ドベキサミン、酒石酸メルアドリン、AR-C68397、レボサルブタモール、R, R-フォルモテロール、KUR-1246、KUL-7211、AR-C89855、S-1319等が挙げられる。

## 【0099】

ロイコトリエン受容体拮抗剤としては、例えば、プランルカスト水和物、モンテルカスト、ザフィルルカスト、セラトロダスト、MCC-847、KCA-757、CS-615、YM-158、L-740515、CP-195494、LM-1484、RS-635、A-93178、S-36496、BIIL-284、ONO-4057等が挙げられる。

## 【0100】

トロンボキサン合成酵素阻害剤としては、例えば、塩酸オザグレル、イミトロダストナトリウム等が挙げられる。

トロンボキサンA<sub>2</sub>受容体拮抗剤としては、例えば、セラトロダスト、ラマトロバン、ドミトロバンカルシウム水和物、KT-2-962等が挙げられる。

メデイエーター遊離抑制薬としては、例えば、トラニラスト、クロモグリク酸ナトリウム、アンレキサノクス、レピリナスト、イブジラスト、ダザノラスト、ペミロラストカリウム等が挙げられる。

## 【0101】

抗ヒスタミン剤としては、例えば、フマル酸ケトチフェン、メキタジン、塩酸アゼラスチン、オキサトミド、テルフェナジン、フマル酸エメダスチン、塩酸エピナスチン、アステミゾール、エバスチン、塩酸セチリジン、ベポタスチン、フェキソフェナジン、ロラタジン、デスロラタジン、塩酸オロパタジン、TAK-427、ZCR-2060、NIP-530、モメタゾンフロエート、ミゾラスチン、BP-294、アンドラスト、オーラノフィン、アクリバスチン等が挙げられる。

## 【0102】

キサンチン誘導体としては、例えば、アミノフィリン、テオフィリン、ドキシフィリン、シバムフィリン、ジプロフィリン等が挙げられる。

抗コリン剤としては、例えば、臭化イプラトロピウム、臭化オキシトロピウム、臭化フルトロピウム、臭化シメトロピウム、テミベリン、臭化チオトロピウム、レバトロペート（UK-112166）等が挙げられる。

サイトカイン阻害薬としては、例えばトシル酸スプラタスト（商品名アイピーディ）等が挙げられる。

## 【0103】

プロスタグランジン類（以下、PGと略記する。）としては、PG受容体アゴニスト、PG受容体アンタゴニスト等が挙げられる。

PG受容体としては、PGE受容体（EP1、EP2、EP3、EP4）、PGD受容体（DP、CRTH2）、PGF受容体（FP）、PGI受容体（IP

)、TX受容体(TP)等が挙げられる。

【0104】

ホスホジエステラーゼ阻害剤としては、例えば、PDE4阻害剤であるロリブラム、シロミラスト(商品名アリフロ)、Bay19-8004、NIK-616、ロフルミラスト(BY-217)、シバムフィリン(BRL-61063)、アチゾラム(CP-80633)、SCH-351591、YM-976、V-11294A、PD-168787、D-4396、IC-485等が挙げられる。

【0105】

エラスターゼ阻害剤としては、ONO-5046、ONO-6818、MR-889、PBI-1101、EPI-HNE-4、R-665、ZD-0892、ZD-8321、GW-311616、AE-3763等が挙げられる。

【0106】

去痰薬としては、例えば、アンモニアウイキョウ精、炭酸水素ナトリウム、塩酸ブロムヘキシン、カルボシステイン、塩酸アンブロキシソール、塩酸アンブロキシソール徐放剤、メチルシステイン塩酸塩、アセチルシステイン、塩酸L-エチルシステイン、チロキサポール等が挙げられる。

【0107】

抗アンドロゲン薬としては、例えば、オキシンドロン、酢酸オサテロン、ピカルタミド等が挙げられる。

$\alpha 1$ 受容体遮断薬としては、塩酸テラゾシン、塩酸ブナゾシン、ウラピジル、塩酸タムスロシン、メシル酸ドキサゾシン、塩酸プラゾシン、インドラミン、ナフトピジル、塩酸アルフゾシン、AIO-8507L等が挙げられる。

5 $\alpha$ -リダクターゼ阻害剤としては、例えば、フィナステリド、GI-998745等が挙げられる。

【0108】

HMG-CoA還元酵素阻害剤としては、シンバスタチン、ロバスタチン、プラバスタチン、フルバスタチン、アトロバスタチン、ピタバスタチン、ロスバスタチンが挙げられる。

フィブラート系製剤としては、フェノフィブラート、クリノフィブラート、クロフィブラート、クロフィブラートアルミニウム、シンフィブラート、ベザフィブラートが挙げられる。

【0109】

プロブコール製剤としては、プロブコールが挙げられる。

ニコチン酸製剤としては、ニコチン酸トコフェロール、ニコモール、ニセリトロールが挙げられる。

その他の抗高コレステロール薬としては、コレスチラミン、ソイステロール、コレスチミドが挙げられる。

【0110】

非ステロイド系抗炎症薬としては、例えば、サザピリン、サリチル酸ナトリウム、アスピリン、アスピリン・ダイアルミネート配合、ジフルニサル、インドメタシン、スプロフェン、ウフェナマート、ジメチルイソプロピルアズレン、ブフェキサマク、フェルピナク、ジクロフェナク、トルメチンナトリウム、クリノリル、フェンブフェン、ナブメトン、プログルメタシン、インドメタシンファルネシル、アセメタシン、マレイン酸プログルメタシン、アンフェナクナトリウム、モフェゾラク、エトドラク、イブプロフェン、イブプロフェンピコノール、ナプロキセン、フルルビプロフェン、フルルビプロフェンアキセチル、ケトプロフェン、フェノプロフェンカルシウム、チアプロフェン、オキサプロジン、プラノプロフェン、ロキソプロフェンナトリウム、アルミノプロフェン、ザルトプロフェン、メフェナム酸、メフェナム酸アルミニウム、トルフェナム酸、フロクタフェニン、ケトフェニルブタゾン、オキシフェンブタゾン、ピロキシカム、テノキシカム、アンピロキシカム、ナパゲルン軟膏、エピリゾール、塩酸チアラミド、塩酸チノリジン、エモルファゾン、スルピリン、ミグレニン、サリドン、セデスG、アミピローN、ソルボン、ピリン系感冒薬、アセトアミノフェン、フェナセチン、メシル酸ジメトチアジン、シメトリド配合剤、非ピリン系感冒薬等が挙げられる。

【0111】

疾患修飾性抗リウマチ剤（遅効性抗リウマチ剤）としては、例えば、金チオグ

ルコース、金チオリンゴ酸ナトリウム、オーラノフィン、アクタリット、D-ペニシラミン製剤、ロベンザリット二ナトリウム、ブシラミン、ヒドロキシクロロキン、サラソスルファピリジン等が挙げられる。

#### 【0112】

軟骨保護剤としては、例えば、ヒアルロン酸ナトリウム、グルコサミン、コンドロイチン硫酸、多硫酸グリコサミノグリカン等が挙げられる。

プロスタグランジン合成酵素阻害剤としては、例えば、サラソスルファピリジン、メサラジン、オサラジン、4-アミノサリチル酸、JTE-522、オーラノフィン、カルプロフェン、ジフェンピラミド、フルノキサプロフェン、フルルピプロフェン、インドメタシン、ケトプロフェン、ロルノキシカム、ロキソプロフェン、メロキシカム、オキサプロジン、パーサルミド、ピプロキセン、ピロキシカム、ピロキシカムベータデックス、ピロキシカムシンナメート、トロピンインドメタシネート、ザルトプロフェン、プラノプロフェン等が挙げられる。

#### 【0113】

併用するEDG-2アンタゴニストと他の薬剤の質量比は特に限定されない。

他の薬剤は、任意の2種以上を組み合わせ投与してもよい。

また、EDG-2アンタゴニストの予防および／または治療効果を補完および／または増強する他の薬剤には、上記したメカニズムに基づいて、現在までに見出されているものだけでなく今後見出されるものも含まれる。

#### 【0114】

EDG-2アンタゴニスト、またはEDG-2アンタゴニストと他の薬剤の併用剤を上記の目的で用いるには、通常、全身的または局所的に、経口または非経口の形で投与される。

#### 【0115】

投与量は、年齢、体重、症状、治療効果、投与方法、処理時間等により異なるが、通常、成人一人当たり、一回につき、1 ngから100 mgの範囲で一日一回から数回経口投与されるか、または成人一人当たり、一回につき、0.1 ngから10 mgの範囲で一日一回から数回非経口投与されるか、または一日1時間から24時間の範囲で静脈内に持続投与される。

もちろん前記したように、投与量は種々の条件により変動するので、上記投与量より少ない量で十分な場合もあるし、また範囲を越えて投与の必要な場合もある。

#### 【0116】

EDG-2 アンタゴニスト、またはEDG-2 アンタゴニストと他の薬剤の併用剤を投与する際には、経口投与のための内服用固形剤、内服用液剤、および非経口投与のための注射剤、外用剤、坐剤、点眼剤、吸入剤等として用いられる。

経口投与のための内服用固形剤には、錠剤、丸剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤等が含まれる。カプセル剤には、ハードカプセルおよびソフトカプセルが含まれる。

#### 【0117】

このような内服用固形剤においては、ひとつまたはそれ以上の活性物質はそのままか、または賦形剤（ラクトース、マンニトール、グルコース、微結晶セルロース、デンプン等）、結合剤（ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルピロリドン、メタケイ酸アルミン酸マグネシウム等）、崩壊剤（繊維素グリコール酸カルシウム等）、滑沢剤（ステアリン酸マグネシウム等）、安定剤、溶解補助剤（グルタミン酸、アスパラギン酸等）等と混合され、常法に従って製剤化して用いられる。また、必要によりコーティング剤（白糖、ゼラチン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート等）で被覆していてもよいし、また2以上の層で被覆していてもよい。さらにゼラチンのような吸収されうる物質のカプセルも包含される。

#### 【0118】

経口投与のための内服用液剤は、薬剤的に許容される水剤、懸濁剤、乳剤、シロップ剤、エリキシル剤等を含む。このような液剤においては、ひとつまたはそれ以上の活性物質が、一般的に用いられる希釈剤（精製水、エタノールまたはそれらの混液等）に溶解、懸濁または乳化される。さらにこの液剤は、湿潤剤、懸濁化剤、乳化剤、甘味剤、風味剤、芳香剤、保存剤、緩衝剤等を含有していてもよい。

#### 【0119】



非経口投与のための外用剤の剤形には、例えば、軟膏剤、ゲル剤、クリーム剤、湿布剤、貼付剤、リニメント剤、噴霧剤、吸入剤、スプレー剤、エアゾル剤、点眼剤、および点鼻剤等が含まれる。これらはひとつまたはそれ以上の活性物質を含み、公知の方法または通常使用されている処方により調製される。

## 【 0 1 2 0 】

軟膏剤は公知または通常使用されている処方により製造される。例えば、ひとつまたはそれ以上の活性物質を基剤に研和、または溶融させて製造される。軟膏基剤は公知あるいは通常使用されているものから選ばれる。例えば、高級脂肪酸または高級脂肪酸エステル（アジピン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸、アジピン酸エステル、ミリスチン酸エステル、パルミチン酸エステル、ステアリン酸エステル、オレイン酸エステル等）、ロウ類（ミツロウ、鯨ロウ、セレスイン等）、界面活性剤（ポリオキシエチレンアルキルエーテルリン酸エステル等）、高級アルコール（セタノール、ステアリルアルコール、セトステアリルアルコール等）、シリコン油（ジメチルポリシロキサン等）、炭化水素類（親水ワセリン、白色ワセリン、精製ラノリン、流動パラフィン等）、グリコール類（エチレングリコール、ジエチレングリコール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、マクロゴール等）、植物油（ヒマシ油、オリーブ油、ごま油、テレピン油等）、動物油（ミンク油、卵黄油、スクワラン、スクワレン等）、水、吸収促進剤、かぶれ防止剤から選ばれるもの単独または2種以上を混合して用いられる。さらに、保湿剤、保存剤、安定化剤、抗酸化剤、着香剤等を含んでもよい。

## 【 0 1 2 1 】

ゲル剤は公知または通常使用されている処方により製造される。例えば、ひとつまたはそれ以上の活性物質を基剤に溶融させて調製される。ゲル基剤は公知あるいは通常使用されているものから選ばれる。例えば、低級アルコール（エタノール、イソプロピルアルコール等）、ゲル化剤（カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、エチルセルロース等）、中和剤（トリエタノールアミン、ジイソプロパノールアミン等）、界面活性剤（モノステアリン酸ポリエチレングリコール等）、ガム類、水、吸収促進

剤、かぶれ防止剤から選ばれるもの単独または2種以上を混合して用いられる。さらに、保存剤、抗酸化剤、着香剤等を含んでもよい。

## 【 0 1 2 2 】

クリーム剤は公知または通常使用されている処方により製造される。例えば、ひとつまたはそれ以上の活性物質を基剤に溶融または乳化させて調製される。クリーム基剤は公知あるいは通常使用されているものから選ばれる。例えば、高級脂肪酸エステル、低級アルコール、炭化水素類、多価アルコール（プロピレングリコール、1, 3-ブチレングリコール等）、高級アルコール（2-ヘキシルデカノール、セタノール等）、乳化剤（ポリオキシエチレンアルキルエーテル類、脂肪酸エステル類等）、水、吸収促進剤、かぶれ防止剤から選ばれるもの単独または2種以上を混合して用いられる。さらに、保存剤、抗酸化剤、着香剤等を含んでもよい。

## 【 0 1 2 3 】

湿布剤は公知または通常使用されている処方により製造される。例えば、ひとつまたはそれ以上の活性物質を基剤に溶融させ、練合物とし支持体上に展延塗布して製造される。湿布基剤は公知あるいは通常使用されているものから選ばれる。例えば、増粘剤（ポリアクリル酸、ポリビニルピロリドン、アラビアゴム、デンプン、ゼラチン、メチルセルロース等）、湿潤剤（尿素、グリセリン、プロピレングリコール等）、充填剤（カオリン、酸化亜鉛、タルク、カルシウム、マグネシウム等）、水、溶解補助剤、粘着付与剤、かぶれ防止剤から選ばれるもの単独または2種以上を混合して用いられる。さらに、保存剤、抗酸化剤、着香剤等を含んでもよい。

## 【 0 1 2 4 】

貼付剤は公知または通常使用されている処方により製造される。例えば、ひとつまたはそれ以上の活性物質を基剤に溶融させ、支持体上に展延塗布して製造される。貼付剤用基剤は公知あるいは通常使用されているものから選ばれる。例えば、高分子基剤、油脂、高級脂肪酸、粘着付与剤、かぶれ防止剤から選ばれるもの単独または2種以上を混合して用いられる。さらに、保存剤、抗酸化剤、着香剤等を含んでもよい。

## 【 0 1 2 5 】

リニメント剤は公知または通常使用されている処方により製造される。例えば、ひとつまたはそれ以上の活性物を水、アルコール（エタノール、ポリエチレングリコール等）、高級脂肪酸、グリセリン、セッケン、乳化剤、懸濁化剤等から選ばれるもの単独または2種以上に溶解、懸濁または乳化させて調製される。さらに、保存剤、抗酸化剤、着香剤等を含んでいてもよい。

## 【 0 1 2 6 】

噴霧剤、吸入剤、およびスプレー剤は、一般的に用いられる希釈剤以外に亜硫酸水素ナトリウムのような安定剤と等張性を与えるような緩衝剤、例えば塩化ナトリウム、クエン酸ナトリウムあるいはクエン酸のような等張剤を含有していてもよい。スプレー剤の製造方法は、例えば米国特許第 2,868,691 号および同第3,095,355 号に詳しく記載されている。

## 【 0 1 2 7 】

非経口投与のための注射剤としては、溶液、懸濁液、乳濁液および用時溶剤に溶解または懸濁して用いる固形の注射剤を包含する。注射剤は、ひとつまたはそれ以上の活性物質を溶剤に溶解、懸濁または乳化させて用いられる。溶剤として、例えば注射用蒸留水、生理食塩水、植物油、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、エタノールのようなアルコール類等およびそれらの組み合わせが用いられる。さらにこの注射剤は、安定剤、溶解補助剤（グルタミン酸、アスパラギン酸、ポリソルベート 8 0（登録商標）等）、懸濁化剤、乳化剤、無痛化剤、緩衝剤、保存剤等を含んでいてもよい。これらは最終工程において滅菌するか無菌操作法によって製造される。また無菌の固形剤、例えば凍結乾燥品を製造し、その使用前に無菌化または無菌の注射用蒸留水または他の溶剤に溶解して使用することもできる。

## 【 0 1 2 8 】

非経口投与のための点眼剤には、点眼液、懸濁型点眼液、乳濁型点眼液、用時溶解型点眼液および眼軟膏が含まれる。

これらの点眼剤は公知の方法に準じて製造される。例えば、ひとつまたはそれ以上の活性物質を溶剤に溶解、懸濁または乳化させて用いられる。点眼剤の溶剤

としては、例えば、滅菌精製水、生理食塩水、その他の水性溶剤または注射用非水性用剤（例えば、植物油等）等およびそれらの組み合わせが用いられる。点眼剤は、等張化剤（塩化ナトリウム、濃グリセリン等）、緩衝化剤（リン酸ナトリウム、酢酸ナトリウム等）、界面活性化剤（ポリソルベート80（商品名）、ステアリン酸ポリオキシシル40、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油等）、安定化剤（クエン酸ナトリウム、エデト酸ナトリウム等）、防腐剤（塩化ベンザルコニウム、パラベン等）等などを必要に応じて適宜選択して含んでもよい。これらは最終工程において滅菌するか、無菌操作法によって製造される。また無菌の固形剤、例えば凍結乾燥品を製造し、その使用前に無菌化または無菌の滅菌精製水または他の溶剤に溶解して使用することもできる。

## 【0129】

非経口投与のための吸入剤としては、エアロゾル剤、吸入用粉末剤または吸入用液剤が含まれ、当該吸入用液剤は用時に水または他の適当な媒体に溶解または懸濁させて使用する形態であってもよい。

これらの吸入剤は公知の方法に準じて製造される。

## 【0130】

例えば、吸入用液剤の場合には、防腐剤（塩化ベンザルコニウム、パラベン等）、着色剤、緩衝化剤（リン酸ナトリウム、酢酸ナトリウム等）、等張化剤（塩化ナトリウム、濃グリセリン等）、増粘剤（カリボキシビニルポリマー等）、吸収促進剤などを必要に応じて適宜選択して調製される。

吸入用粉末剤の場合には、滑沢剤（ステアリン酸およびその塩等）、結合剤（デンプン、デキストリン等）、賦形剤（乳糖、セルロース等）、着色剤、防腐剤（塩化ベンザルコニウム、パラベン等）、吸収促進剤などを必要に応じて適宜選択して調製される。

## 【0131】

吸入用液剤を投与する際には通常噴霧器（アトマイザー、ネブライザー）が使用され、吸入用粉末剤を投与する際には通常粉末薬剤用吸入投与器が使用される。

非経口投与のためその他の組成物としては、ひとつまたはそれ以上の活性物質

を含み、常法により処方される直腸内投与のための坐剤および腔内投与のためのペッサリー等が含まれる。

【0132】

【実施例】

以下、実施例によって本発明を詳述するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

【0133】

実施例1：細胞内カルシウムイオンの濃度変化をモニターすることによるEDG-2拮抗活性の評価

ヒトEDG-2遺伝子を過剰発現させたチャイニーズハムスターオーバリー（CHO）細胞を、10%FBS（ウシ胎児血清）、ペニシリン/ストレプトマイシンおよびブラスチサイジン（ $5\mu\text{g}/\text{ml}$ ）含有のHam's F12培地（GIBCO BRL社製）で培養した。培養した細胞をFura2（ $5\mu\text{M}$ ）-AM溶液[FBS（10%）、HEPES緩衝液（20mM, pH7.4）、プロベネシド（2.5mM）含有Ham's F12培地]中で、37℃、60分間インキュベーションした。次に、HEPES緩衝液（20mM, pH7.4）およびプロベネシド（2.5mM）を含むハंकス（Hanks）液で1回洗浄し、同液に浸した。蛍光ドラッグスクリーニングシステムにプレートを設定し、30秒間無刺激で細胞内カルシウムイオン濃度の上昇を測定した。被験薬（終濃度：1nM～10 $\mu\text{M}$ 、ジメチルスルホキシド（DMSO）溶液）を添加した5分後に、LPA（終濃度：100nM）を添加し、LPA添加前後の細胞内カルシウムイオン濃度の上昇を3秒間隔で測定した（励起波長340nmおよび380nm、蛍光波長500nm）。LPAとしては、1-リノレノイル（18:3）-LPAを使用した。これは、18:3-LPC（linolenoyl (18:3)-lysophosphatidylcholine）を用いて、ホスホリパーゼDにより合成した。

【0134】

EDG-2拮抗活性は、被験薬の代わりにDMSOを添加したウェルでのLPA（終濃度：100nM）によるピーク値をコントロール値（A）とし、被験薬を処置した細胞でのLPA投与後の上昇値（B）とを比較し、抑制率（%）とし

て以下のように算出した。

【数 1】

$$\text{抑制率 (\%)} = [(A - B) / A] \times 100$$

IC<sub>50</sub>値は、抑制率 50 % を示す被験薬の濃度として算出した。

【0135】

その結果、本発明中の化合物は EDG-2 拮抗活性を有することがわかった。  
例えば、3-(N-(2-(2-(ピリジン-3-イルメチルアミノ)カルボニル)フェニル)フェニル)カルボニル)-N-(2-(2,5-ジメトキシフェニル)エチル)アミノ)プロパン酸 塩酸塩 [以下、化合物 (a) と略記する]、およびメチル 3-(4-[4-(1-(2-クロロフェニル)エトキシ)カルボニル]アミノ)-3-メチル-5-イソキサゾリル]ベンジル)スルファニル)プロパノエート [以下、化合物 (b) と略記する] の IC<sub>50</sub>値は、それぞれ 0.78 μM、1.5 μM であった。

【0136】

実施例 2：ヒト前立腺ストローマ細胞の LPA 依存性増殖作用

正常ヒト前立腺ストローマ細胞 (PrSC 5685; Clonetics 社) を用いて LPA による増殖活性をデオキシブロモウリジン (BrdU) 取り込み活性を指標として測定した。

【0137】

10% FBS (ウシ胎児血清)、ゲンタマイシン (50 μg/mL)、アムフォテルシン B (50 ng/mL) およびヒト bFGF、ヒトインスリン含有の MEM-α 培地 (GIBCO 社) に 1 × 10<sup>4</sup> cells/well の濃度で PrSC 5685 を 96 ウエルプレートに播き、24 時間培養した。その後、ハanks (Hanks) 液で 2 回洗浄し、無血清培地 (ゲンタマイシン (50 μg/mL) およびアムフォテルシン B (50 ng/mL) 含有の MEM-α) に交換し、さらに 24 時間培養した。LPA (終濃度: 1 nM ~ 10 μM) を添加し、それと同時に BrdU を加え、24 時間培養した。また、コントロールとして LPA の代わりに生理食塩水を同量加えた。

【0138】

B r d U 取り込みは、細胞増殖 (Cell proliferation) ELISA キット (Amersham 社) を用いて測定した。詳しくは、細胞を B r d U で処理した後、培養上清を捨て、各 W e l l に細胞固定・DNA 変性溶液 (150  $\mu$  L) を加え、30 分間放置した。細胞固定・DNA 変性溶液を取り除き、ブロッキング・バッファー (Blocking buffer) (150  $\mu$  L) を加え、さらに 30 分間放置した。次にブロッキング・バッファー (Blocking buffer) を取り除き、ペルオキシダーゼでラベルした抗 B r d U 抗体溶液 (100  $\mu$  L) を加え、30 分間放置した。次に抗体溶液を取り除き、洗浄バッファー (Wash buffer) (PBS(-); 150  $\mu$  L) で 3 回洗浄し、タッピングで充分に水分を取り除いた後、反応基質溶液 (3,3',5,5',-tetramethylbenzidine, TMB in 15% DMSO 溶液; 100  $\mu$  L) を加えた。2 N 硫酸溶液 (25  $\mu$  L) を加え、マイクロプレートリーダー SPECTRAMAXPRO によって 450 nm の吸光度を測定した。

図 1 に結果を示す。

【0139】

実施例 3 : E D G - 2 アンタゴニストによるヒト前立腺ストローマ細胞の L P A 依存性増殖作用の阻害効果

実施例 2 で示した方法でヒト前立腺ストローマ細胞を培養し、L P A を加える直前に被験薬 (終濃度: 1 nM ~ 10  $\mu$  M) を加えた。被験薬としては前記した化合物 (a) および化合物 (b) を用いた。L P A の刺激濃度は 1  $\mu$  M とした。L P A を加えた後に B r d U を加え、さらに 24 時間培養して B r d U 取りこみ活性を測定した。

【0140】

その結果、図 2 および図 3 に示すように、被験薬は L P A 刺激によるヒト前立腺ストローマ細胞の増殖を濃度依存的に抑制した。

次に、遊離 L D H (Lactate dehydrogenase; 乳酸脱水素酵素) を指標とした細胞毒性評価を行った。その結果、被験薬に非特異的な細胞毒性は観察されず、被験薬は L P A に拮抗して細胞増殖を抑制したことがわかった。

上記結果より、L P A はヒト前立腺ストローマ細胞の増殖を促進し、かつその担当受容体は E D G - 2 であることがわかった。

## 【 0 1 4 1 】

## 実施例 4 : ヒト気道平滑筋細胞の L P A 依存性増殖作用

正常ヒト気道平滑筋細胞 ( B S M C ; BioWhittaker 社 ) を用いて L P A による増殖活性を B r d U 取り込み活性を指標として測定した。

## 【 0 1 4 2 】

1 0 % F B S ( ウシ胎児血清 ) 、 ゲンタマイシン ( 5 0  $\mu$  g / m L ) 、 アムフォテルシン B ( 5 0 n g / m L ) 、 ヒト b F G F およびヒトインスリン含有の M E M -  $\alpha$  培地 ( G I B C O 社 ) に  $1 \times 1 0^4$  cells / well の濃度で B S M C を 9 6 ウェルプレートに播き、 2 4 時間培養した。その後、ハンクス ( Hanks ) 液で 2 回洗浄し、無血清培地 ( ゲンタマイシン ( 5 0  $\mu$  g / m L ) およびアムフォテルシン B ( 5 0 n g / m L ) 含有 M E M -  $\alpha$  ) に交換し、さらに 2 4 時間培養した。 L P A ( 終濃度 : 3 n M ~ 1 0  $\mu$  M ) を添加し、それと同時に B r d U を加え、さらに 6 時間培養した。また、コントロールとして L P A の代わりに生理食塩水を同量加えた。

## 【 0 1 4 3 】

B r d U 取り込みは、細胞増殖 ( Cell proliferation ) E L I S A キット ( Amersham 社 ) を用いて測定した。詳しくは、細胞を B r d U で処理した後、培養上清を捨て、各 W e l l に細胞固定・ D N A 変性溶液 ( 1 5 0  $\mu$  L ) を加えて、 3 0 分間放置した。細胞固定・ D N A 変性溶液を取り除き、ブロッキング・バッファー ( Blocking buffer ) ( 1 5 0  $\mu$  L ) を加え、さらに 3 0 分間放置した。次に、ブロッキング・バッファー ( Blocking buffer ) を取り除き、ペルオキシダーゼでラベルした抗 B r d U 抗体溶液 ( 1 0 0  $\mu$  L ) を加え、 3 0 分間放置した。抗体溶液を取り除き、洗浄バッファー ( Wash buffer ) ( P B S ( - ) ; 1 5 0  $\mu$  L ) で 3 回洗浄し、タッピングで充分に水分を取り除いた後、反応基質溶液 ( 3 , 3 ' , 5 , 5 ' , - tetramethylbenzidine, TMB in 1 5 % D M S O 溶液 ; 1 0 0  $\mu$  L ) を加えた。 2 N 硫酸溶液 ( 2 5  $\mu$  L ) を加え、マイクロプレートリーダー S P E C T R A M A X P R O によって 4 5 0 n m の吸光度を測定した。

図 4 に結果を示す。

## 【 0 1 4 4 】



# 実施例 5 : E D G - 2 アンタゴニストによるヒト気道平滑筋細胞の L P A 依存性増殖作用の阻害効果

実施例 4 で示した方法で B S M C を培養し、L P A を加える直前に被験薬（終濃度：1 n M ~ 1 0 μ M）を加えた。被験薬としては前記した化合物（a）および化合物（b）を用いた。L P A の刺激濃度は 3 μ M とした。L P A を加えた後に B r d U を加え、さらに 6 時間培養して B r d U 取りこみ活性を測定した。

## 【 0 1 4 5 】

その結果、図 5 および図 6 に示すように、被験薬は L P A 刺激によるヒト気道平滑筋細胞の増殖を濃度依存的に抑制した。

次に、遊離 L D H（Lactate dehydrogenase；乳酸脱水素酵素）を指標とした細胞毒性評価を行った。その結果、被験薬に非特異的な細胞毒性は観察されず、被験薬は L P A に拮抗して細胞増殖を抑制したことがわかった。

上記結果より、L P A はヒト気道平滑筋細胞の増殖を促進し、かつその担当受容体は E D G - 2 であることがわかった。

## 【 0 1 4 6 】

### 製剤例 1：

以下の各成分を常法により混合した後打錠して、一錠中に 5 0 m g の活性成分を含有する錠剤 1 0 0 錠を得た。

- ・ 3 - ( N - ( ( 2 - ( 2 - ( ( ピリジン - 3 - イルメチルアミノ ) カルボニル ) フェニル ) フェニル ) カルボニル ) - N - ( 2 - ( 2 , 5 - ジメトキシフェニル ) エチル ) アミノ ) プロパン酸 ..... 5 . 0 g
- ・ カルボキシメチルセルロースカルシウム（崩壊剤） ..... 0 . 2 g
- ・ ステアリン酸マグネシウム（潤滑剤） ..... 0 . 1 g
- ・ 微結晶セルロース ..... 4 . 7 g

## 【 0 1 4 7 】

### 製剤例 2：

以下の各成分を常法により混合した後、溶液を常法により滅菌し、5 m l ずつアンプルに充填し、常法により凍結乾燥し、1 アンプル中 2 0 m g の活性成分を含有するアンプル 1 0 0 本を得た。

- ・ 3 - (N - ( (2 - (2 - ( (ピリジン - 3 - イルメチルアミノ) カルボニル) フェニル) フェニル) カルボニル) - N - (2 - (2, 5 - ジメトキシフェニル) エチル) アミノ) プロパン酸 ..... 2.0 g
- ・ マンニトール ..... 20 g
- ・ 蒸留水 ..... 1000 ml

【図面の簡単な説明】

【図 1】 LPA による正常ヒト前立腺ストローマ細胞の増殖作用を表わす。

【図 2】 LPA による正常ヒト前立腺ストローマ細胞の増殖作用を化合物 (a) が濃度依存的に抑制することを示す。

【図 3】 LPA による正常ヒト前立腺ストローマ細胞の増殖作用を化合物 (b) が濃度依存的に抑制することを示す。

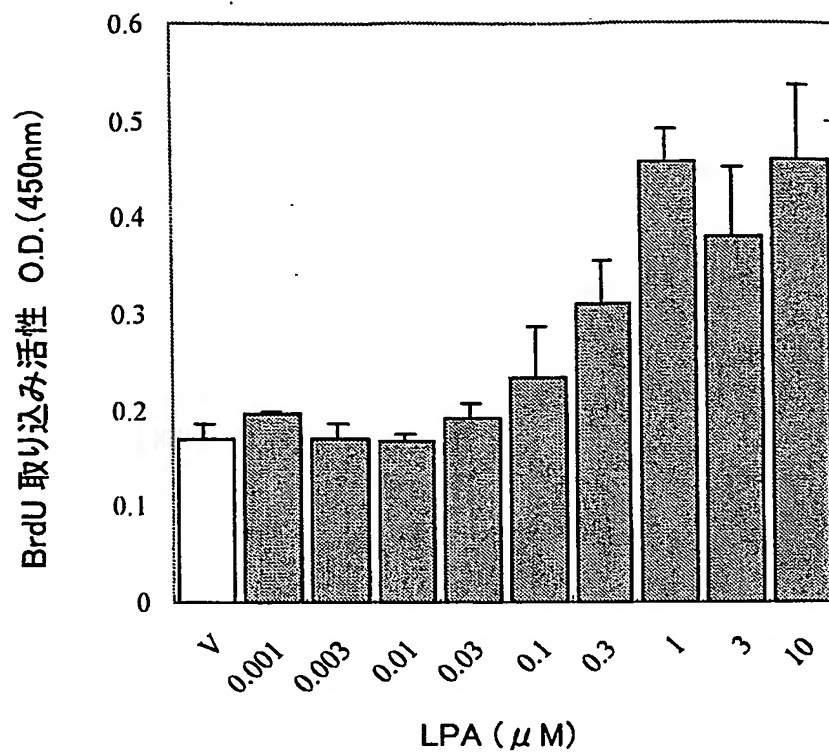
【図 4】 LPA による正常ヒト気道平滑筋細胞の増殖作用を表わす。

【図 5】 LPA による正常ヒト気道平滑筋細胞の増殖作用を化合物 (a) が濃度依存的に抑制することを示す。

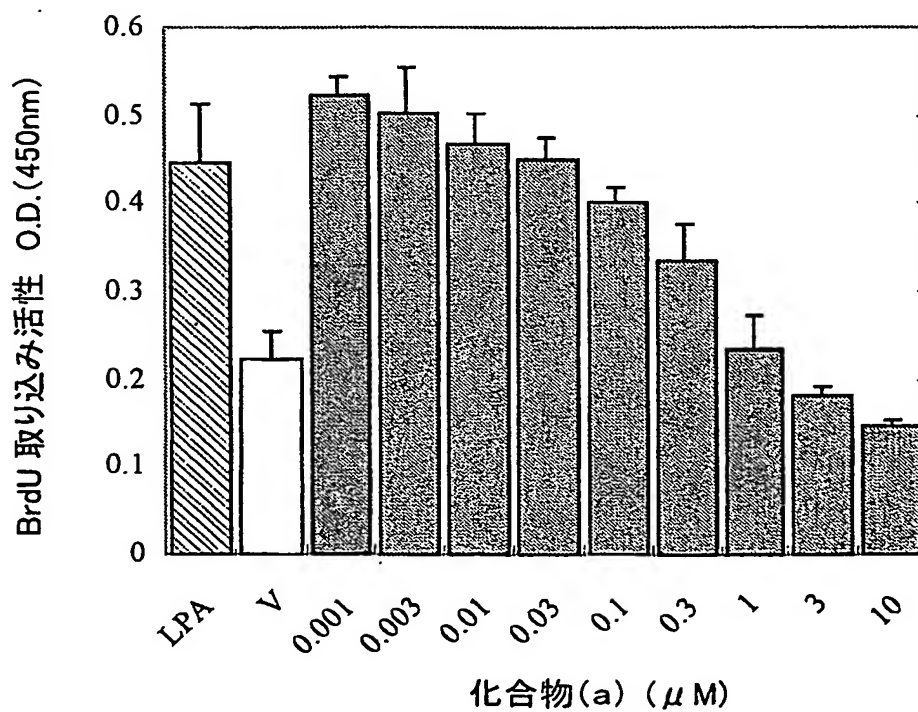
【図 6】 LPA による正常ヒト気道平滑筋細胞の増殖作用を化合物 (b) が濃度依存的に抑制することを示す。

【書類名】 図面

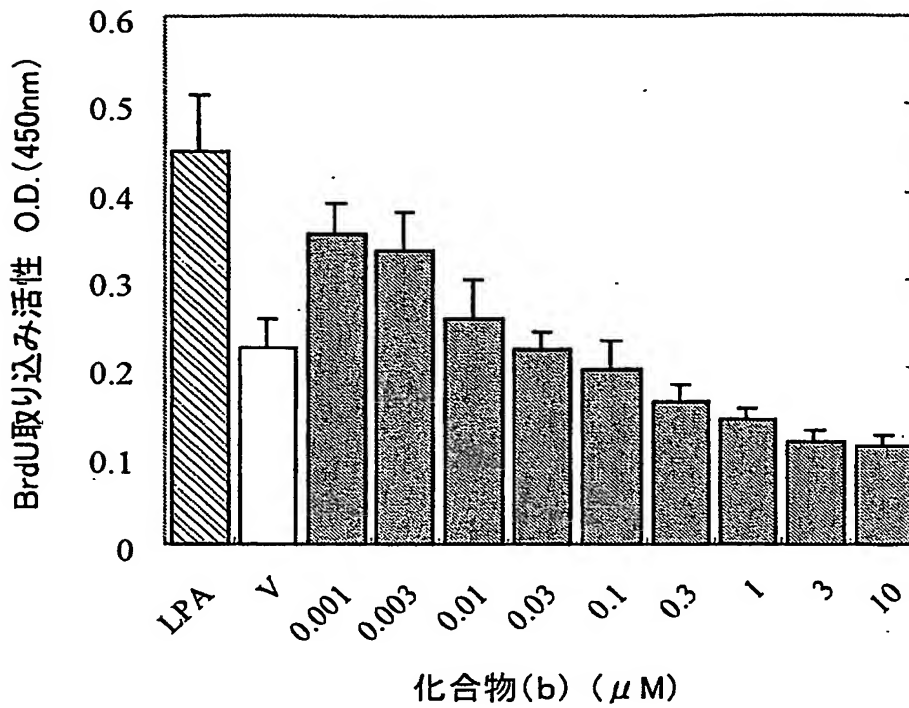
【図 1】



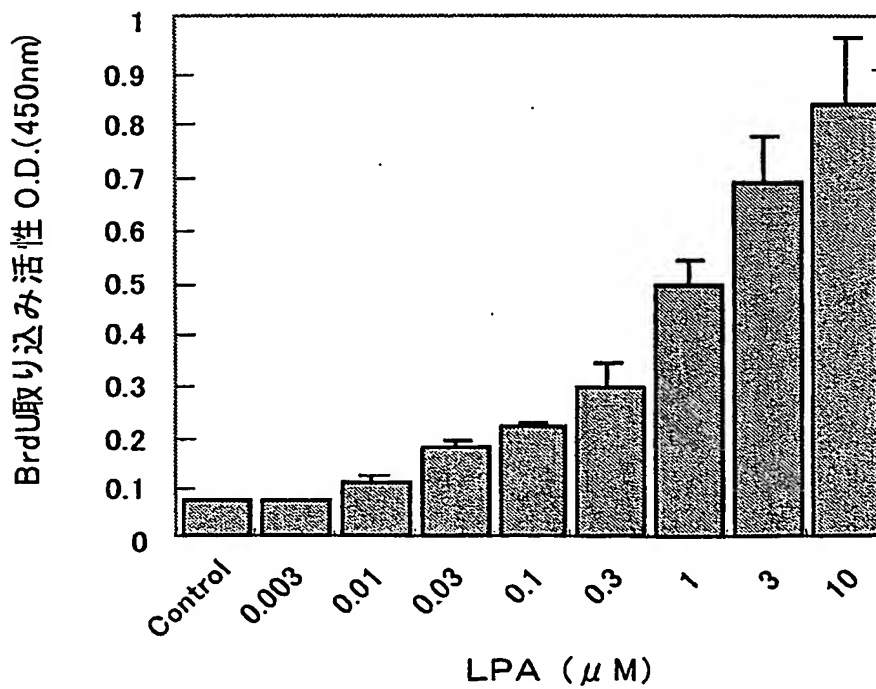
【図 2】



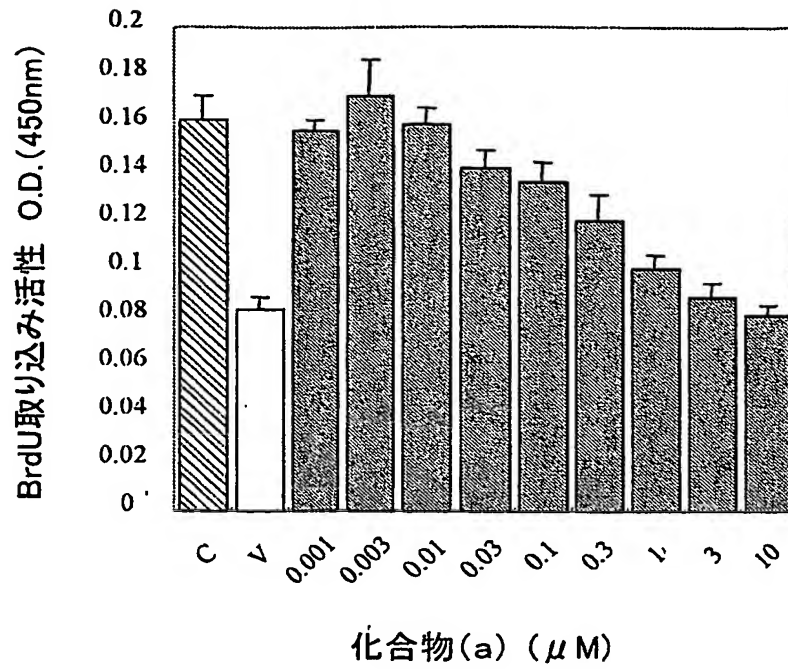
【図3】



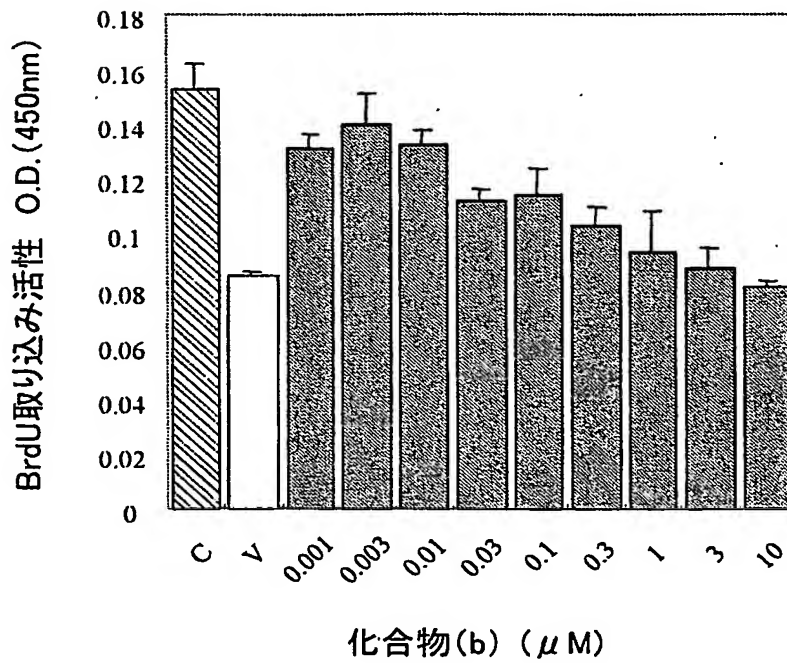
【図4】



【図 5】



【図 6】



【書類名】 要約書

【要約】

【構成】 E D G - 2 アンタゴニストからなる慢性疾患治療および／または予防剤。

【効果】 E D G - 2 アンタゴニストは L P A 受容体サブタイプの E D G - 2 に結合するため、E D G - 2 を介して L P A により増殖が亢進する組織細胞によって引き起こされる疾患、例えば、慢性喘息、糸球体腎炎、肥満、前立腺肥大症、動脈硬化の進行によって起こる疾患、リウマチおよびアトピー性皮膚炎から選ばれる慢性疾患の治療および／または予防に有用である。

【選択図】 なし

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000185983]

1. 変更年月日 1990年 9月 2日

[変更理由] 新規登録

住 所 大阪府大阪市中央区道修町2丁目1番5号  
氏 名 小野薬品工業株式会社